

Winfried Schürmann

BUKKALE RESORPTION
EIN IN VIVO - MODELL
FÜR DEN PASSIVEN ARZNEISTOFFTRANSFER
DURCH BIOLOGISCHE MEMBRANEN

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552206_0022

Aus dem Department of Clinical Pharmacology
des St. Bartholomew's Hospital Medical College, London,
und

dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Bukkale Resorption - ein in vivo-Modell für den
passiven Arzneistofftransfer durch biologische Membranen

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fachbereiche

5 Vorklinische und Theoretische Medizin und

6 Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Winfried Schürmann
aus Warstein

1979



Dekan: Prof. Dr. H. Themann

1. Berichterstatter Prof. Dr. K. Opitz
2. Berichterstatter Prof. Dr. H. Schröer

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Aus dem Department of Clinical Pharmacology des St. Bartholomew's
Hospital Medical College, London,

und

dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Referent: Prof. Dr. K. Opitz

Korreferent: Prof. Dr. H. Schröer

BUKKALE RESORPTION - EIN IN VIVO-MODELL FÜR DEN PASSIVEN ARZNEISTOFFTRANSFER DURCH BIOLOGISCHE MEMBRANEN

Winfried Schürmann

Die bukkale Resorption (Resorption einer wäßrigen Lösung durch die Mundschleimhaut) von Propranolol und Atenolol wurde unter Bedingungen variabler Substratkonzentration, variabler Wasserstoffionenkonzentration und variabler Kontaktzeit in vivo in vielen Experimenten an einem Probanden untersucht, ebenso die bukkale Resorption von Digoxin unter Bedingungen variabler Polysorbat-80-Konzentration. Die Resorptionsversuche wurden durch Phenolrot als nichtresorbierbaren internen Marker kontrolliert. Die Dissoziationskonstanten, die Öl-Wasser-Verteilungskoeffizienten und die Wasserlöslichkeiten von Propranolol und Atenolol wurden in vitro bestimmt.

Die Ergebnisse der Resorptionsversuche wurden verglichen mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen derselben Arbeitsgruppe über die Permeation von Propranolol und Atenolol aus dem Blut in Liquor cerebrospinalis und Speichel, ferner Untersuchungen über den Einfluß von Polysorbat 80 auf die gastrointestinale Resorption von Digoxin. Es zeigten sich Übereinstimmungen, die es möglich erscheinen lassen, von der bukkalen Resorption qualitative Voraussagen abzuleiten.

Die empirischen Daten der bukkalen Resorption ließen sich quantitativ deuten, indem man das klassische Membranmodell der "Theorie der nichtionischen Diffusion" um die Parameter "Membranspeicherung" und "pH-puffernde wäßrige Oberflächenschicht" erweiterte.

Tag der Promotion: 15.11.1979

Meinen verehrten Lehrern

M. Eßfeld

und

Prof. Dr. D. Harder

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

<u>1.</u>	<u>Einleitung</u>	1
1.1.	Umfeld und Ziel der vorliegenden Arbeit	1
1.2.	Ausgewählte Literatur zum bukkalen Resorptionstest	4
1.3.	Theorie der nicht-ionischen Diffusion	9
<u>2.</u>	<u>Materialien und Methoden</u>	13
2.1.	Materialien	13
2.1.1.	Liste der verwendeten Chemikalien und Arzneistoffe	13
2.1.2.	Instrumentelle Ausstattung	15
2.1.3.	Reinigen der Glasgeräte	16
2.2.	Methoden	17
2.2.1.	Fluoreszenzphotometrische Bestimmung von Propranolol, Atenolol und Chinin	17
2.2.2.	Absorptionsspektralphotometrische Bestimmung von Phenolrot und Salicylsäure	25
2.2.3.	Physikochemische Eigenschaften von Propranolol und Atenolol	31
2.2.4.	Der bukkale Resorptionstest	37
2.2.5.	Berechnung der Resorption unter Berücksichtigung der Störfaktoren Schlucken und Speichelsekretion	39

2.2.6.	Konzentrationsabhängigkeit der Resorption	43
2.2.7.	pH-Abhängigkeit der Resorption	44
2.2.8.	Zeitabhängigkeit der Resorption	45
2.2.9.	Einfluß von Polysorbat auf die Resorption	46
<u>3.</u>	<u>Ergebnisse</u>	48
3.1.	Physikochemische Eigenschaften von Propranolol und Atenolol	48
3.2.	Bukcale Resorption	49
3.2.1.	Schlucken und Speichelsekretion	49
3.2.2.	Konzentrationsabhängigkeit der Resorption	50
3.2.3.	pH-Abhängigkeit der Resorption	51
3.2.4.	Zeitabhängigkeit der Resorption	51
3.2.5.	Einfluß von Polysorbat auf die Resorption	52
<u>4.</u>	<u>Diskussion</u>	53
4.1.	Diskussion der Methoden	53
4.2.	Beschreibung der bukkalen Resorption durch ein physikalisches Modell der Mundschleimhaut	55
4.3.	Diskussion des Modellwerts der bukkalen Resorption	70
<u>5.</u>	<u>Zusammenfassung</u>	86
<u>6.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	88
<u>7.</u>	<u>Danksagung</u>	95
<u>8.</u>	<u>Lebenslauf</u>	96
Anhang	<u>Tabellen und Abbildungen</u>	I - LXXIII

1. Einleitung

1.1. Umfeld und Ziel der vorliegenden Arbeit

"Klinische Pharmakologie" im weiten Sinn des Wortes schließt die Pharmakologie des gesunden und des kranken Menschen ein¹⁾. Da in ihr Menschen als Versuchspersonen an pharmakologischen Studien teilnehmen, müssen strenge Anforderungen an die angewandten Methoden gestellt werden. So verwundert es nicht, daß die junge Wissenschaft noch immer eine ihrer Hauptaufgaben darin sieht, die eigene Forschungsmethodik zu entwickeln und zu verfeinern.

In den vergangenen Jahren haben sich klinische Studien und Modellversuche als typische methodische Ansätze herausgebildet. Bei den Modellversuchen werden Teilsysteme und -funktionen des menschlichen Körpers stellvertretend für bedeutendere, aber weniger zugängliche Gesamtsysteme untersucht; dabei werden vom Modell Aussagen über das Objekt abgeleitet. Zum Beispiel kann die menschliche Iris als ein Modell für autonom innervierte Hohlorgane angesehen werden. Arzneistoffwirkungen können an diesem Modell als Veränderungen des Pupillendurchmessers beobachtet werden, und es genügt dafür die lokale Applikation einer geringen Menge der zu untersuchenden Substanz in den Bindehautsack. Oder es hat sich gezeigt, daß die Wiederaufnahmemechanismen für einige biogene Amine an Thrombozyten dieselben sind wie an Nervenendigungen, so

1) Im Gegensatz zum deutschen Sprachgebrauch ist die Unterscheidung zwischen Humanpharmakologie (an gesunden Probanden) und Klinischer Pharmakologie (an Patienten) im Englischen nicht üblich. Die hier beschriebenen Versuche wurden in einem "Department of Clinical Pharmacology" an gesunden Probanden durchgeführt.

daß sich der fördernde oder hemmende Einfluß von Arzneistoffen auf diese Mechanismen an isolierten Thrombozyten im Reagenzglas untersuchen läßt. Oder es wird zur Beurteilung beruhigender oder erregender Arzneimittelwirkungen die Verschmelzungsfrequenz des Auges für stroboskopisches Licht herangezogen, die einen repräsentativen und leicht meßbaren Parameter der psychischen Vigilanz darstellt.

In diesem Zusammenhang ist auch vorgeschlagen worden, daß die Resorption von Arzneistoffen aus der Mundhöhle, die sog. bukkale Resorption, als ein allgemeines Modell für den "passiven Transfer von Arzneistoffen durch Lipid-Membranen" (Beckett u. Triggs, 1967) angesehen werden könne. Solche Lipid-Membranen könnten z.B. die Wandung des Nierentubulus, das Epithel der Speicheldrüsen oder die Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke sein. Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, einen Beitrag zur empirischen Überprüfung des Modellwerts der bukkalen Resorption zu leisten, die Voraussagefähigkeit dieses Testes zu beurteilen, und einige der sich aus den Modellvorstellungen ergebenden Implikationen anzugeben.

Dem experimentellen Teil der Arbeit waren folgende Ziele vorangestellt:

1. Es sollten die physikochemischen Eigenschaften der Modellsubstanzen Propranolol und Atenolol bestimmt werden, um über einen Vergleich mit ihrer bukkalen Resorption Aussagen über den physikalischen Membrancharakter der menschlichen Mundschleimhaut ableiten zu können.
2. Es sollte die bukkale Resorption der Modellsubstanzen Propranolol, Atenolol und Digoxin unter solchen experimentellen Bedingungen untersucht werden, daß sie mit

Befunden von sog. Objektstudien verglichen werden konnte. Diese Objektstudien bezogen sich auf

- a. die Permeation von Propranolol und Atenolol in den Liquor cerebrospinalis,
- b. die Sezernierung von Propranolol und Atenolol mit dem Speichel, und
- c. die gastrointestinale Resorption von Digoxin unter dem Einfluß der oberflächenaktiven Substanz Polysorbat 80.

Die Objektstudien wurden etwa zur gleichen Zeit von anderen Mitarbeitern im Department of Clinical Pharmacology am St. Bartholomew's Hospital, London (a. und b.), bzw. im Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine de Créteil (c.) begonnen; sie waren aber bis zum Zeitpunkt der Abfassung dieser Arbeit noch nicht abgeschlossen (bzw. veröffentlicht).

Die Experimente zur Resorption durch die Mundschleimhaut sollten am Menschen durchgeführt werden. Die Deklaration von Helsinki über biomedizinische Versuche am Menschen in ihrer vom Weltärztebund im Oktober 1975 in Tokio festgelegten Form war bekannt, ihre Bestimmungen wurden eingehalten.

1.2. Ausgewählte Literatur zum bukkalen Resorptionstest

Beckett u. Triggs (1967) führten den bukkalen Resorptionstest ein, der auf folgendem einfachen Prinzip beruht: Eine bestimmte Menge Arzneistoff in wäßriger Lösung wird für eine vorgegebene Zeit in der Mundhöhle gehalten und danach ausgespien; der Verlust an Arzneistoff wird als Resorption gemessen. Die Autoren gaben eine allgemeine Methodik an und berichteten über die bukkale Resorption von 26 basischen Substanzen bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen. Ein gegensinniger Einfluß des pH auf bukkale Resorption und renale Exkretion der Substanzen ließ die Autoren vermuten, daß der bukkale Resorptionstest für die pH-Abhängigkeit der tubulären Rückresorption und darüberhinaus möglicherweise für passive Resorptionsprozesse allgemein Modellcharakter habe²⁾.

Beckett u. Moffat (1968 und 1969b) untersuchten die wechselseitige Abhängigkeit von Kettenlänge, Verteilungskoeffizient im n-Heptan/Wasser-System und bukkaler Resorption bei homologen Serien von alkylsubstituierten Aminen bzw. Säuren. Sie fanden eine ausgeprägte positive Korrelation zwischen dem Logarithmus des Verteilungskoeffizienten und der Anzahl der Kohlenstoffatome der Alkylkette einerseits, und dem Logarithmus des Verteilungskoeffizienten und dem Prozentsatz der Resorption andererseits. Daraus schlossen die Autoren, daß es in Übereinstimmung mit der Theorie der nichtionischen Diffusion vor allem der Lipidcharakter

2) Der seit dieser Veröffentlichung allgemein verwendete Begriff des "bukkalen" Resorptionstests bezieht sich natürlich nicht nur auf Resorption durch die Schleimhaut der Wangen (lat. bucca), sondern durch die gesamte die Mundhöhle begrenzende Schleimhautoberfläche.

der unionisierten Substanz sei, der die Resorptionsgeschwindigkeit bestimme, und weiterhin, daß das Lösungsmittel n-Heptan als ein gültiges "Modelllipid" für den lipophilen Charakter der Mundschleimhaut angesehen werden könne³⁾.

Lippold u. Schneider (1976) berichteten, daß die Geschwindigkeitskonstanten der bukkalen Resorption bei einer Serie homologer Dimethyl-(2-hydroxymethyl)-alkylammoniumbromide proportional zu der Anzahl der Kohlenstoffatome in der Alkylseitenkette zunimmt. Im Gegensatz dazu nahmen die Übertrittsgeschwindigkeiten im Oktanol/Wasser-Verteilungssystem nicht proportional zur Anzahl der Kohlenstoffatome zu, sondern näherten sich einem Plateau. Die Autoren deuteten das Auseinanderklaffen der in vivo- und in vitro-Befunde, indem sie für die biologische Membran wäßrige an der Oberfläche adhärierende Schichten postulierten. Diese Schichten seien dafür verantwortlich, daß in der in vivo-Situation das Nachlassen des resorptionsfördernden Effekts einer zunehmenden Kettenlänge nicht sichtbar geworden sei.

Auf der Grundlage eines theoretischen Modells für biologische Membranen, das die obengenannten "wäßrigen adhärenden Schichten" in die Diskussion eingebracht hatte (Suzuki, Higuchi u. Ho, 1970), berechneten Ho u. Higuchi (1971) sowie Vora, Higuchi u. Ho (1972) aus den Resorptionsdaten von zwei Serien homologer Carboxylsäuren die inkrementale Verteilungskonstante $\bar{\pi}$ für die Methylengruppe der Alkylseitenkette. Der so erhaltene angenäherte $\bar{\pi}$ -Wert der Mundschleimhaut wurde mit den bekannten $\bar{\pi}$ -Werten verschiedener organischer Lösemittel verglichen. Die beste Überein-

3) In der Literatur, die sich mit biologischen Membranen und Membranmodellen befaßt, ist die Bezeichnung "Lipid" auch für organische Lösemittel gebräuchlich; das Augenmerk ist auf die gemeinsame Eigenschaft der Lipophilie gerichtet.

stimmung: ergab sich im Falle von Isobutanol, das von den Autoren als Modelllipid für die Mundschleimhaut vorgeschlagen wurde.

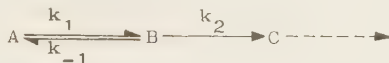
Wenige Studien befaßten sich mit dem passiven Charakter der bukkalen Resorption. Beckett u. Triggs (1967) sowie Arbab (1972) haben gezeigt, daß die resorbierte Menge von Methamphetamin und Chlorphentermin, sowie Thymoxamin mit ansteigender Anfangskonzentration zunimmt. Die erstgenannten wiesen auch auf die fehlende Stereospezifität des resorptiven Prozesses und auf das Fehlen einer Interferenz bei der Resorption von Arzneistoffgemischen hin. Beckett, Boyes u. Triggs (1968) und Beckett u. Pickup (1975) berichteten, daß Amphetamine und Steroide nach dem Test durch Mundspülen aus der Schleimhaut wiedergewonnen werden können. Dies wurde im Sinne eines passiven, reversiblen Prozesses gedeutet.

Manning u. Evered (1976) haben beobachtet, daß die bukkale Resorption der Zucker D-Glukose, 3-O-Methyl-D-Glukose, D-Fruktose und D-Galaktose eine Sättigungskinetik zeigt, und postulierten einen Carriermechanismus für diese Zucker ähnlich dem an anderen epithelialen Membranen.

Dearden u. Tomlinson (1971) berichteten, daß der Zeitverlauf der bukkalen Resorption von p-Methylacetanilid nicht einer einfachen Kinetik 1. Ordnung gehorcht, sondern genauer durch physikalische Modelle nachgeahmt werden kann, die ein Element von Speicherung und Wiedereinschleusen des Gespeicherten enthalten. Die Autoren schlugen ein Resorptionsmodell vor, das ein parallel zum Resorptionsweg geschaltetes Kompartiment für "Proteinbindung" einschließt:

Mundhöhle —→ Membran —→ Körperflüssigkeiten
 ↓
Proteinbindung.

Beckett u. Pickup (1975) bestätigten an einer Serie von Steroiden, daß der Zeitverlauf der bukkalen Resorption nicht einer Kinetik 1. Ordnung folgt. Die Autoren näherten den empirischen Zeitverlauf durch eine Bi-Exponentialfunktion an und bestimmten mit Hilfe der Funktionsparameter die Geschwindigkeitskonstanten in einem Kompartimentalmodell, das "Membranspeicherung" berücksichtigt:



Therapeutisch bedeutsame Substanzen wurden untersucht von Bickel u. Weder (1969): Imipramin und seine wichtigsten Metaboliten, Beckett u. Moffat (1971): einige Barbiturate und Garnham et al. (1977): Indometacin.

Hicks (1973) bestimmte die Verteilungskoeffizienten und die pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption für die β -Adrenolytika Propranolol, Pindolol und Practolol. Der Verteilungskoeffizient (im n-Heptan / 0,01 N NaOH-System) von Propranolol war mit 28,5 bedeutend höher als diejenigen von Pindolol und Practolol (0,45 bzw. 0,19). Die Resorption von Propranolol nahm mit ansteigendem pH in Form einer S-Kurve zu, während Pindolol und Practolol über den ganzen pH-Bereich nur wenig resorbiert wurden. Somit spiegelt der Unterschied im Resorptionsverhalten zwar den unterschiedlichen lipophilen Charakter der Arzneistoffe wider, stellt aber nach Meinung der Autorin kein Modell für die gastro-intestinale Resorption dar, da alle drei Substanzen aus dem Magendarmtrakt gleichmäßig schnell resorbiert werden.

Andererseits wird der Vorhersagewert der bukkalen Resorption hinsichtlich der renalen Ausscheidung von Arzneistoffen in einer Reihe von Veröffentlichungen hervorgehoben. Wie Beckett u. Triggs (1967) für eine Anzahl von basischen Substanzen, so fanden auch Meyer, Kaye u. Turner (1974) für Procainamid, Kaye u. Long (1976) für Acebutolol, Kiddie u. Kaye (1976) für Mexiletin und Lignocain, und Ankier u. Kaye (1976) für Disopyramid einen deutlichen Zusammenhang zwischen der pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption und der Beeinflußbarkeit der renalen Exkretion durch Steuerung des Harn-pH.

1.3. Theorie der nicht-ionischen Diffusion

Die Theorie der nicht-ionischen Diffusion wurde in den späten fünfziger Jahren von einer amerikanischen Arbeitsgruppe um Brodie, Hogben, Schanker, Shore und Tocco eingeführt. Sie ist das Ergebnis intensiver experimenteller Forschung, welche seinerzeit durch die Beobachtung einer scheinbaren Sekretion der Base Levorphanol aus dem Blut in das saure Milieu des Hundemagens ausgelöst worden war (berichtet in Brodie u. Hogben, 1957). Den Einfluß physikochemischer Parameter auf den passiven Transfer von Säuren und Basen beschreibend, ist sie noch heute das am häufigsten herangezogene Modell zur Erklärung der Arzneistoffresorption, soweit es sich um Elektrolyte handelt. Ihre zentralen Aussagen können - nach einer Übersichtsdarstellung von Brodie (1964) - wie folgt zusammengefaßt werden:

Eine biologische Membran verhält sich wie eine Lipidbarriere zwischen zwei wäßrigen Kompartimenten. Nur in der nicht dissoziierten und nicht proteingebundenen Form ist eine Substanz in der Lage, die Membran zu passieren. Der Transfer erfolgt als passive Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles. Im Gleichgewichtszustand sind die Konzentrationen der nicht dissoziierten, nicht proteingebundenen Substanz auf beiden Seiten der Membran gleich.

Es stellt einen besonderen Wert dieser Theorie dar, daß sie mit nur wenigen Zusatzannahmen vollständig in einen Satz mathematischer Gleichungen überführt werden kann. Wenn man annimmt, daß die Geschwindigkeitskonstanten für die Ionisations- und Proteinbindungsgleichgewichte in den wäßrigen Phasen unendlich groß sind im Vergleich zur Geschwindigkeitskonstanten

der Diffusion durch die Membran, dann wird die "Fraktion der unionisierten Substanz", f_u , (definiert als

$$f_u = \frac{U}{U+I} \quad (\text{Gl. 1})$$

mit I und U für die Konzentrationen der ionisierten bzw. der unionisierten Spezies) zu jedem Zeitpunkt durch die Henderson-Hasselbalch-Gleichungen bestimmt. Für eine Base lautet die Henderson-Hasselbalch-Gleichung

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{U}{I}, \quad (\text{Gl. 2})$$

daraus folgt für f_u :

$$f_u = 1 / (1 + 10^{(\text{pKa}-\text{pH})}). \quad (\text{Gl. 3})$$

Entsprechend gilt für eine Säure:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{I}{U} \quad (\text{Gl. 4})$$

und

$$f_u = 1 / (1 + 10^{(\text{pH}-\text{pKa})}). \quad (\text{Gl. 5})$$

Die "Fraktion der nicht proteingebundenen (freien) Substanz", f_f , ist gegeben durch

$$f_f = \frac{X}{X+XP}, \quad (\text{Gl. 6})$$

mit X für die Konzentration an freier, XP für die Konzentration an proteingebundener Substanz.

Stellt man sich die Lipidmembran in ihren Dimensionen unendlich dünn vor, dann gehorcht der Diffusionsprozeß durch sie einer einfachen Kinetik 1. Ordnung, und die Abnahme der Konzentration im Anfangskompartiment folgt der Exponentialgleichung:

$$c_e = c_i \cdot e^{-k_{app} t} \quad (Gl. 7)$$

In diesem sog. mono-exponentiellen Term steht k_{app} für die "scheinbare Geschwindigkeitskonstante der Resorption", die die scheinbare Resorption der gesamten (ionisierten und nicht ionisierten, freien und proteingebundenen) Substanz beschreibt, und c_i und c_e bezeichnen die Anfangs- und Endkonzentrationen bezüglich des Zeitintervalles t . Jedoch kann nur der freie und unionisierte Anteil die Lipidmembran durchqueren; dem wird Rechnung getragen, indem die Faktoren f_u und f_f in die Gleichung 7 einbezogen werden:

$$c_e f_u f_f = c_i f_u f_f \cdot e^{(-k_{app}/f_u f_f) \cdot t} \quad (Gl. 8)$$

Durch Einführen von

$$k = k_{app}/f_u f_f \quad (Gl. 9)$$

und Dividieren durch $f_u f_f$ reduziert sich Gl. 8 zu

$$c_e = c_i \cdot e^{-k t} \quad (Gl. 10)$$

k ist die "wahre Geschwindigkeitskonstante der Resorption" (Khalil u. Martin, 1967; dort allerdings ohne f_f). Sie charakterisiert den Transfer des unionisierten Anteils einer Substanz innerhalb der Lipidmembran unabhängig von

Ionisationsgrad und Proteinbindung.

Diese Gleichungen erlauben es, experimentelle Resorptionsdaten mathematisch zu behandeln und die zugrundeliegende Theorie der nicht-ionischen Diffusion empirisch zu prüfen.

2. Materialien und Methoden

2.1. Materialien

2.1.1. Liste der verwendeten Chemikalien und Arzneistoffe

Äthylacetat	p.a. (Analytical Reagent)	BDH Chemicals, Poole
Amylalkohol	p.a.	BDH
Atenolol-Base	-	ICI Ltd., Nacclesfield
Benzol	p.a.	BDH
Chinin-Sulfat B.P.	-	Krankenhaus- apotheke
Chloroform	p.a.	BDH
Diäthyläther	p.a.	BDH
Digoxin B.P.	Lanoxin ^R Amp. 0,5 mg	Krankenhaus- apotheke
Dinatriumhydro- genphosphat	p.a.	BDH
Eisen(III)- nitrat	purum (Laboratory Grade)	BDH
Glycin	chromatographisch rein	BDH
n-Heptan	purum	BDH
Kaliumdihydro- genphosphat	p.a.	BDH
Natriumchlorid	p.a.	BDH
Natriumhydroxid	p.a.	BDH
Octanol-(2)	purum	BDH
Phenolsulfon- phthalein (Phenolrot)	purum	BDH
Polysorbat 80	-	Dép. de Pharma- col. de Créteil
Propranolol-Hydro- chlorid (Racemat)	-	ICI

Salicylsäure B.P.	-	Krankenhaus- apotheke
Salzsäure 11,8 N	purum	BDH
Salzsäure 11,8 N	p.a.	BDH
Schwefelsäure 10 N	purum (Volumetric Solution)	BDH
Kommerzielle Standardpuffer pH 4, 7 und 9,2	(unbekannte chem. Zusammensetzung)	Tntek Ltd., London
Toluol	p.a.	BDH
Zitronensäure	p.a.	BDH

2.1.2. Instrumentelle Ausstattung

Für die fluorometrischen Konzentrationsbestimmungen von Propranolol, Atenolol und Chinin wurde ein Spektralfluoreszenzphotometer des Typs "Baird Atomic FP 100" verwendet. Dieses Instrument war mit einer Xenonlampe und Quarzglasküvetten für die UV-Fluoreszenzphotometrie ausgerüstet; eine Screening-Automatik erlaubte das halbautomatische Aufzeichnen von Excitations- und Emissionsspektren. Für die quantitativen Messungen standen drei Empfindlichkeitsbereiche zur Verfügung, von denen jedoch nur der hohe (h) und gelegentlich der mittlere (m) benutzt wurden. Innerhalb eines jeden Bereiches konnte die Empfindlichkeit stufenweise auf das 3-, 10-, 30-, 100-, 300- und 1000fache erhöht werden. Wegen des arithmetischen Zusammenhangs der Empfindlichkeitsstufen war es möglich, fluorometrische Ablesungen von verschiedenen Stufen rechnerisch ineinander zu überführen. So war z.B. die Ablesung "40" aus dem Bereich "h", Stufe "3", - abgekürzt "h3:40" - gleichbedeutend mit den Ablesungen "h30:400" oder "h1:13,3". Das Instrument wurde zu Beginn einer Meßserie und nach jeweils halbstündiger Betriebsdauer mit einer Fluoreszenz-Standardlösung (1 µg/ml Chinin-Sulfat in 0,01 N H₂SO₄) kalibriert. Hierzu wurde mittels eines Kalibrations-Drehreglers die Ablesung bei der optimalen Wellenlängenkonstellation (350/450 nm) auf "h3:40" eingestellt.

Die Absorptionsspektren von Phenolrot und Salicylsäure wurden auf einem Spektralphotometer vom Typ "Unicam SP 1800" aufgezeichnet. Für die routinemäßigen Konzentrationsmessungen dieser Substanzen wurde das kleinere "Unicam SP 600" - Spektralphotometer verwendet. Die Wellenlängen maximaler Extinktion lagen bei diesem Instrument um etwa 15 - 20 nm niedriger als die Spitzenwellenlängen der aufgezeichneten Spektren; dies wurde bei allen Wellenlängennotierungen

unmittelbar korrigiert. Ein Satz von vier Küvetten wurde ausgewählt, die sich in ihren Eigenextinktionen bei jeder der Wellenlängen 450 nm, 560 nm und 620 nm um nicht mehr als 0,004 Extinktionseinheiten voneinander unterschieden.

pH-Messungen wurden auf einem pH-Meter des Typs "Orion Research 701" vorgenommen. Die Nichtlinearität dieses Instruments wurde dadurch ausgeglichen, daß die Meßergebnisse gegen die Ablesungen von kommerziellen Standardpuffern pH 4, 7 und 9,2 linear interpoliert wurden.

Die Osmolalitätsmessungen wurden auf einem "Advanced 3 L"-Osmometer durchgeführt.

2.1.3. Reinigen der Glasgeräte

Nach Gebrauch wurden alle Glasgeräte mit Leitungswasser gespült, für mindestens drei Stunden in 3 N HCl eingeweicht und in Leitungswasser, destilliertem Wasser und entionisiertem Wasser (in dieser Reihenfolge) nachgespült. Pipetten wurden nicht in entionisiertem Wasser nachgespült. Getrocknet wurde in einem elektrisch beheizten Ofen bei 120° C.

2.2. Methoden

2.2.1. Fluoreszenzphotometrische Bestimmung von Propranolol, Atenolol und Chinin

Shand et al. (1970) und Kaye (1974) haben Verfahren zur fluoreszenzspektralphotometrischen Bestimmung von Propranolol und Atenolol in biologischen Flüssigkeiten beschrieben. Aufgrund dieser Verfahren entwickelten wir für unsere Resorptionsexperimente eine vereinfachte Methode, die das selektive Erfassen der beiden Substanzen in einer gemischten Lösung erlaubt.

Die Abbildungen 1 bis 4 stellen die Excitations- und Emissionsspektren von Propranolol (2,5 µg/ml) und Atenolol (50 µg/ml) in 0,01 N HCl dar. Die gewählten Konzentrationen ergaben Intensitätsmaxima vergleichbarer Höhe. Bei den Excitationsspektren wurden die Emissionswellenlängen auf die in der Literatur angegebenen Werte eingestellt, bei den Emissionsspektren wurden dann die selbst ermittelten optimalen Excitationswellenlängen benutzt.

Im beobachteten Bereich zeigten beide Substanzen einfache Fluoreszenzkurven mit jeweils zwei Excitationsspitzen, einer ihnen gemeinsamen bei 230 nm, und einer charakteristischen größeren bei 295 nm im Falle von Propranolol, bzw. 275 nm im Falle von Atenolol. Die Emissionsmaxima lagen bei 340 nm (Propranolol) und 302 nm (Atenolol). Die Emissionsspitze von Propranolol hatte eine charakteristische Form.

Als optimale Wellenlängenkonstellationen $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{em}}$ wurden die folgenden Werte angenommen: 295/340 nm für Propranolol,

275/302 nm für Atenolol; sie wichen leicht von den veröffentlichten ab (295/360 nm für Propranolol, Shand et al., 1970, 280/310 nm für Atenolol, Kaye, 1974).

Da die Fluoreszenzspektren von Propranolol und Atenolol denselben Wellenbereich einnahmen - die Excitationsmaxima lagen nur 25 nm, die Emissionsmaxima etwa 40 nm auseinander -, konnte nicht sicher angenommen werden, daß in einer Mischung jede der beiden Substanzen unbeeinflusst durch die andere meßbar sei. Aus diesem Grunde wurden die Excitations- und Emissionsspektren aus einer gemischten Lösung mit denselben Konzentrationen wie vorher aufgezeichnet (Abb. 5 - 8). Ein Vergleich zwischen den Excitationsspektren einer jeden Substanz in der Mischung (Abb. 5 und 6) und den entsprechenden Spektren der Einzelsubstanzen (Abb. 1 und 2) ergab keinerlei Veränderung außer einer gesteigerten Streulichtintensität. Auch die Emissionsspektren blieben im wesentlichen unverändert. Während das Emissionsspektrum von Propranolol durch Atenolol nicht beeinflusst wurde (vgl. Abb. 7 mit Abb. 3), unterschied sich das Atenolol-Emissionsspektrum in der Mischlösung (Abb. 8) von dem der Einzellösung (Abb. 4) durch zwei Nebenmaxima auf dem absteigenden Schenkel. Die Spitze bei 340 nm konnte nach Lage und Form als vom Propranolol herrührend angesehen werden, und eine Interpretation des mittleren Peaks wurde unter Annahme additiver Superposition in Abb. 8a versucht.

Aufgrund der Analyse der Fluoreszenzspektren wurde eine Spezifität der fluorometrischen Bestimmung erwartet. Diese wurde durch Parallelmessungen von Einzellösungen und Mischungen mit hundertfach variierendem Konzentrationsverhältnis bestätigt.

Die Abbildungen 9 und 10 geben die Excitations- und Emissionsspektren von Chinin-Sulfat ($5 \mu\text{g/ml}$ in $0,01 \text{ N H}_2\text{SO}_4$) wieder. Das Excitationsspektrum (Abb. 9) wurde bei einer Emissionswellenlänge 450 nm aufgezeichnet, das Emissionsspektrum wurde dreifach superponiert für Excitationen bei 350 nm (Optimum für Chinin), 295 nm (Optimum für Propranolol) und 275 nm (Optimum für Atenolol). Aus Abb. 10 ist zu ersehen, daß Chinin bei den Wellenlängen, bei denen Propranolol und Atenolol abgelesen werden, kein Fluoreszenzlicht abstrahlt; eine Störung der Messung durch Chinin ist deshalb nicht zu erwarten. Andererseits absorbieren weder Propranolol noch Atenolol Licht der charakteristischen Excitationswellenlänge von Chinin (vgl. Abb. 1 und 2 mit Abb. 9); es ist deshalb unwahrscheinlich, daß sie bei der Messung von Chinin interferieren. Die optimale Wellenlängenkonstellation für Chinin ergibt sich nach Abb. 9 und 10 zu $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{em}} = 350/450 \text{ nm}$.

Sowohl für Propranolol als auch für Atenolol wurde eine geringfügige Abhängigkeit der Fluoreszenz vom pH der Lösung festgestellt (Abb. 11); dies bestätigte entsprechende Befunde bei Propranolol von Shand et al. (1970).

Um die Stabilität der Fluoreszenzeigenschaften von wäßriger Lösung zu bestimmen - Chinin als Standard wurde von vornherein als stabil angesehen -, beobachteten wir die Fluoreszenz von Propranolol und Atenolol in saurer, alkalischer und einer Lösung von physiologischem pH über einen Verlauf von drei Wochen (Abb. 12 und 13). Offenbar nahm die Fluoreszenz über einen Zeitraum von 3 - 5 Tagen zu, um dann langsam abzufallen. Lediglich Atenolol in alkalischer Lösung stieg kontinuierlich an. (Die relativ hohe Schwankung der Meßergebnisse von Tag zu Tag gab Anlaß zu einer kundendienstlichen Überprüfung des Fluorometers).

Die obere Grenze für einen linearen Zusammenhang zwischen Konzentration und Fluoreszenzintensität wurde durch Standardkurven über einen großen Konzentrationsbereich ermittelt. Abb. 14 zeigt die Standardkurven von 0 bis 100 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid und Atenolol-Base in 0,01 N HCl, und von 0 bis 10 $\mu\text{g/ml}$ Chinin-Sulfat in 0,01 N H_2SO_4 . Als obere Grenze (markiert durch gestrichelte Linien) wurden angesehen: 10 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid, 60 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol-Base und 10 $\mu\text{g/ml}$ Chinin-Sulfat. Diese Konzentrationen wurden in den fluorometrischen Proben nicht überschritten.

Aus der Steigung des linearen Abschnittes der Standardkurve konnte durch Division durch das Molekulargewicht ein relatives Maß für die "molare Fluoreszenzkapazität" der Substanzen gewonnen werden. Ein absolutes Maß hätte man erhalten, wenn die Fluoreszenzlicht-Intensität in absoluten Einheiten unabhängig vom Instrument gemessen worden wäre; da dies nicht möglich war, wurde die molare Fluoreszenzkapazität von Chinin willkürlich gleich 100 gesetzt und diejenigen von Propranolol und Atenolol als Bruchteile ähnlich einem Prozentwert ausgedrückt. Auf diese Weise wurden mit den Molekulargewichten 783,0 für Chinin-Sulfat, 295,8 für Propranolol-Hydrochlorid und 640,4 für Atenolol-Base die folgenden Werte für die relative molare Fluoreszenzkapazität ermittelt:

Chinin = 100, Propranolol = 27, Atenolol = 4,1 (Tab. 1).

Vorversuche zur Extraktion von Propranolol und Atenolol aus biologischen Flüssigkeiten ergaben, daß die Methode von Kaye (1974) inkonstante Fluoreszenzablesungen lieferte. Dies wurde offenbar durch unvollständige Phasentrennung zwischen der wäßrigen und der organischen Phase (Äthylacetat) verursacht, da eine leichte, hauchige Trübung der wäßrigen fluorometrischen Proben schon makroskopisch sichtbar blieb. Auch durch

Verlängerung der Zentrifugation auf 15 Minuten konnte diese Trübung nicht sicher beseitigt werden.

Aufgrund der sich in den Vorversuchen abzeichnenden Schwierigkeit wurde Amylalkohol als ein besser von der wäßrigen Phase trennbares, jedoch ebenfalls polares organisches Lösemittel in seinen Extraktionseigenschaften für Propranolol und Atenolol untersucht. Amylalkohol wurde in steigenden Anteilen von 0, 20, 40, 60, 80 und 100 % mit n-Heptan vermischt und jeweils die Extraktionseffizienz dieser Mischungen bestimmt. In Abb. 15 ist die Extraktionseffizienz als Prozentsatz der nach der Extraktion wiedergewonnenen Arzneistoffmenge angegeben; dabei wurde berücksichtigt, daß im Laufe des Verfahrens ein Sechstel der Anfangsmenge (durch Verwerfen von 2 ml der organischen Phase, s.u.) verloren ging. Es ist ersichtlich, daß reines n-Heptan (oder aber ein Amylalkoholgehalt von 1,5 % v/v wie in der Methode von Shand et al., 1970) das beste Extraktionsmittel für Propranolol darstellt, während Atenolol sich am besten mit reinem Amylalkohol extrahieren läßt. Da eine simultane Extraktion beider Arzneistoffe aus einer gemischten Lösung wünschenswert erschien, wurde in einem Kompromiß 30 % v/v Amylalkohol in n-Heptan als organische Phase für Extraktionen ausgewählt. Dieses Solvens besitzt mit 50 % eine etwa gleichhohe Extraktionseffizienz für Atenolol wie das von Kaye (1974) verwendete Äthylacetat und extrahiert Propranolol zu ungefähr 90 %.

Ausgehend von den Methoden von Shand et al. (1970) und Kaye (1974) und unter Berücksichtigung der eigenen Vorversuche wurde in unseren Experimenten die folgende Extraktionsmethode angewandt:

3 ml der Testflüssigkeit des bukkalen Resorptionstests (in einem 20 ml Quickfit^R Zentrifugen-Reagenzglas mit Stopfen) wurden mit 0,2 ml 10 M NaOH⁴⁾ alkalisiert. 12 ml 30 % ^{v/v} Amylalkohol in n-Heptan wurden hinzupipettiert. Nach mechanischem Schütteln in einer Schüttelmaschine über 10 min und Zentrifugieren (5 min bei 3000 U/min) wurden 10 ml des organischen Überstandes zu 3 ml 0,01 N HCl (bzw. 0,01 N H₂SO₄ in der Polysorbat-Studie) in ein zweites Quickfit^R-Reagenzglas transferiert; es wurde geschüttelt und zentrifugiert wie oben angegeben. Ein Aliquot der unteren wäßrigen Schicht wurde abpipettiert und die darin enthaltene Arzneistoffkonzentration fluorometrisch gemessen.

Standardkurven für Propranolol und Atenolol nach Extraktion aus Phosphatpuffer pH 7,0, der 5 % Speichel enthielt, waren linear und schnitten die Ordinatenachse im Ursprung (Abb. 16). In Einzelbestimmungen mit und ohne Extraktion betrug die Extraktionseffizienz für Chinin 89 %; die entsprechenden Werte für Propranolol und Atenolol wurden bestätigt (93 bzw. 50 %; Tab. 2). Substanzen mit Säurecharakter wie Phenolrot und Salicylsäure wurden bei der Extraktion nicht miterfaßt; die extrahierten Konzentrationen lagen unter der Nachweisgrenze (Tab. 3). Es wurde sichergestellt, daß Polysorbat 80 im angewendeten Konzentrationsbereich die Extraktion von Propranolol, Atenolol und Chinin nicht beeinflusst: In Vierfachbestimmungen wichen die Fluoreszenzablesungen von Lösungen, die 0, 100 oder 10 000 µg/ml Polysorbat 80 enthielten, nicht signifikant voneinander ab (Tab. 4; U-Test von Mann-Whitney-Wilcoxon, $\alpha = 0,05$).

4) Die konzentrierte 10 M NaOH-Lösung wurde durch Auflösen von einem Mol (40 g) NaOH-Plättchen in 100 ml Wasser hergestellt. Die Bezeichnung 10 N NaOH, die sich auf die Hydroxidionen-Aktivität bezieht, wäre hier inkorrekt.

Die Fluoreszenz von arzneistofffreien Lösungen nach dem Extraktionsverfahren wurde gegenüber reiner 0,01 N Salzsäure beständig mit $h_{100} : 5 - 10$ gemessen (Leerwert). Da eine Fluoreszenz vom Fünffachen des Leerwertes als untere Grenze der Meßgenauigkeit angesehen wurde, lagen die Nachweisgrenzen in unseren Experimenten bei 0,05 $\mu\text{g/ml}$ für Propranolol-Hydrochlorid, bei 0,70 $\mu\text{g/ml}$ für Atenolol-Base und bei 0,04 $\mu\text{g/ml}$ für Chinin-Sulfat.

In den Versuchen zur Zeit- und pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption begegneten wir negativen Werten für die Resorption von Atenolol, die bis zu 5 % betrugen. Es schien, als ob die Fluoreszenz von Atenolol durch den Mundkontakt zunähme. Als mögliche Ursachen für dieses Phänomen wurden untersucht:

1. Die Beimischung fluoreszierender Substanzen in der Mundhöhle.

Leerwerte von Pufferlösung mit Mundkontakt wichen nicht merklich von solchen ohne Mundkontakt ab. Die entsprechenden Werte waren bei zwei Versuchen: $h_{300} : 15,9$ und $12,1$ ohne, und $h_{300} : 15,9$ und $12,9$ mit Mundkontakt. Instant-Kaffee, wie er von den Probanden zwischen Einzelversuchen genossen wurde, beeinflusste die Atenolol-Leerwerte selbst in einer Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ nicht meßbar. (Eine geringe Fluoreszenzentwicklung von $h_{30} : 35$ trat bei der Wellenlängenkonstellation 310/330 nm auf.). Die Möglichkeit, daß fluoreszierende Bestandteile des Raucherspeichels die erhöhte Fluoreszenz in den Proben mit Mundkontakt verursacht hätten, war deshalb unwahrscheinlich, weil der Proband der Einzelprobanden-Versuche (W.S.) und die Mehrzahl der übrigen Probanden Nichtraucher waren.

Eine veränderte Zusammensetzung des Speichels aufgrund der pharmakodynamischen Wirkung der verwendeten β -Adrenolytika erscheint wegen der geringen Absolutmengen des resorbierten Arzneistoffes (wenige Mikrogramm) wohl ebenfalls auszuschließen zu sein.

2. Bildung eines stärker fluoreszierenden Atenololderivats durch Reaktion mit Bestandteilen des Speichels.

Um diese Möglichkeit abzuklären, wurde in zehnfacher Ausführung eine Lösung von 5 ml 10 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol in Phosphatpuffer pH 6,7, welchem 20 % v/v Saliva beige-mischt war, hergestellt und bei 37° C für 24 Stunden inkubiert. Eine ebensogroße Stichprobe ohne Saliva diente als Kontrolle. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Fluoreszenzablesungen betrugen $h_{10} : 57,07 \pm 1,62$ in der Gruppe mit Speichel, $h_{10} : 56,01 \pm 1,17$ in der Kontrollgruppe. Im t-Test für unverbundene Stichproben (Biomathematik für Mediziner, 1975, S. 161) erwies sich der Unterschied bei einem Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ als nicht signifikant.

Somit bot keiner der angestellten Versuche eine Erklärungsmöglichkeit für das beobachtete Phänomen einer scheinbaren negativen Resorption von Atenolol.

2.2.2. Absorptionsspektralphotometrische Bestimmung von Phenolrot und Salicylsäure

Phenolrot

Phenolrot, oder Phenolsulfonphthalein, ist ein Triphenylmethan-Indikator mit dem Molekulargewicht 354,4, und eine zweibasige Säure mit einem $pK_{a1} = 1,03$ (Gupta u. Reed, 1970) und einem $pK_{a2} = 7,9$ (Merck Index, 1968). Das zweibasige Anion, das bei einem $pH > 7,9$ vorherrscht, hat eine kirschrote Farbe, während das Mono-Anion gelb erscheint. Die Lichtabsorption des Indikators im sichtbaren Bereich bildete die Grundlage für die spektralphotometrische Bestimmung.

Abb. 17 zeigt das Absorptionsspektrum von Phenolrot in zwei verschiedenen Konzentrationen (1 und 0,2 $\mu g/ml$) in alkaliisiertem Phosphatpuffer $pH 7,4$. Bei 560 nm imponiert ein konzentrationsabhängiges Maximum mit einem steilen Schenkel zu den größeren, und einem flacheren zu den kleineren Wellenlängen hin. In Abb. 18 sind die entsprechenden Kurven von Phenolrot in Resorptions-Testflüssigkeit (Phosphatpuffer $pH 7,4$ nach 5 Minuten Mundkontakt) dargestellt und das Absorptionsspektrum der Testflüssigkeit selber superponiert. Es zeigt sich eine bedeutende Leerwertextinktion, die wellenlängenabhängig von 700 nach 300 nm stetig, aber nicht linear zunimmt. Um diese Leerwertextinktion bei der Messung von Phenolrot berücksichtigen zu können, wurden die Wellenlängen an den Fußpunkten des Maximums für auxiliäre Ableisungen herangezogen. Die Fußpunkte wurden durch Konstruktion einer Basislinie für das Maximum geometrisch ermittelt, sie liegen bei 625 und 425 nm.

Eine Standardkurve von Phenolrot über 0 bis 10 $\mu\text{g/ml}$ ohne Mundkontakt, abgelesen bei 560 nm, war linear und verlief durch den Ursprung (Abb. 19). Die Vorstellung, daß man sich die Extinktionen von Testlösungen mit Mundkontakt als zusammengesetzt zu denken hatte aus der Komponente der eigentlichen Phenolrotextinktion und einer Basisextinktion aufgrund von Speichelbeimischung, war also zutreffend. Die Phenolrotextinktion müßte wiedergewonnen werden können, wenn man von der Gesamtextinktion die Basisextinktion oder einen Schätzwert davon subtrahierte. Zwei Methoden zur Schätzung wurden ausprobiert und mit der direkten Messung, welche die Basisextinktion unberücksichtigt ließ, verglichen.

In den Versuchen zur pH-Abhängigkeit der Resorption wurden die initiale Lösung ohne Mundkontakt und die Testlösungen jeweils bei den drei Wellenlängen 560, 425 und 625 nm abgelesen. Die Werte wurden auf drei verschiedene Arten benutzt, um die "Fraktion des wiedergewonnenen Markers", $c_{m,e}/c_{m,i}$, zu berechnen:

- a) "Fraktion des wiedergewonnenen Markers" als Verhältnis der Ablesungen für Initial- und Endkonzentration ($r_{i,560}$, $r_{e,560}$) ohne Korrektur für Basisextinktion:

$$\frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} = \frac{r_{e,560}}{r_{i,560}} \quad (\text{Einpunktmessung}),$$

- b) als das Verhältnis der Ablesungen bei 560 nm, von denen die Ablesungen bei 625 nm abgezogen worden waren:

$$\frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} = \frac{(r_{e,560} - r_{e,625})}{(r_{i,560} - r_{i,625})} \quad (\text{Zweipunktmessung}),$$

c) als das Verhältnis der Extinktionsgipfelhöhen über einer gedachten geraden Basislinie (vgl. Abb. 20):

$$\frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} = \frac{r_{e,560} - (0,675 \cdot r_{e,625} + 0,325 \cdot r_{e,425})}{r_{i,560} - (0,675 \cdot r_{i,625} + 0,325 \cdot r_{i,425})}$$

(Dreipunktmessung).

Insgesamt standen für jeden der pH-Werte zwischen 5 und 10 acht Proben zur Verfügung. In Abb. 21 sind die Mittelwerte der "Fraktionen des wiedergewonnenen Markers" gegen den pH aufgetragen, wie sie nach den drei verschiedenen Methoden errechnet wurden. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, gab Methode a) bei pH 8, 9 und 10 eine scheinbar negative Resorption des Markers vor. Methode c) war zeitraubend durch die vermehrten Messungen und Rechnungen, die im Vergleich mit der Methode b) nicht gerechtfertigt erschienen; sowohl Methode c) wie b) arbeiteten ja mit einem Schätzwert für die Basisextinktion. Für die weiteren Experimente wurde darum Methode b) ausgewählt.

Die gesamte spektralphotometrische Bestimmung von Phenolrot verlief dann folgendermaßen:

Von den verdünnten und gefilterten Testflüssigkeiten und von den ebenso behandelten Proben der Initiallösung wurden 5 ml-Aliquots in 10 ml Plastikröhrchen pipettiert und für 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert, um einen trotz des Filterns verbleibenden Rest an Detritus zu sedimentieren.

3 ml des Überstandes wurden zu 0,1 ml 10 M NaOH in Reagenzgläser umpipettiert, gemischt und spektralphotometrisch bei 560 und 625 nm gegen destilliertes Wasser gemessen. Entsprechend b) wurde die Differenz dieser Ablesungen als "photometrische Markerkonzentration" ($c_{m;e,i}$) notiert und zur Berechnung der Fraktion des wiedergewonnenen Markers herangezogen.

Die Fluoreszenz von Phenolrot war gering: 2 µg/ml ergaben eine Ablesung von $h_{100} : 45$ bei der Wellenlängenkonstellation von Propranolol, und $h_{100} : 1$ bei der Wellenlängenkonstellation von Atenolol. Da Phenolrot zudem durch den Extraktionsschritt praktisch quantitativ ausgeschlossen wurde (Tab. 3), konnte man annehmen, daß es bei der Messung von Propranolol und Atenolol nicht interferieren würde. Ebenso war ein Einfluß in umgekehrter Richtung unwahrscheinlich, da Propranolol und Atenolol in wäßriger Lösung farblos sind.

Salicylsäure

Salicylsäurekonzentrationen wurden nach dem Verfahren von Trinder (1954) bestimmt, bei dem ein farbiges Derivat gebildet und spektralphotometrisch bei 525 nm gemessen wird. Das bei dieser Bestimmungsmethode benutzte Reagenz besteht aus Eisennitrat und Quecksilberchlorid in verdünnter Salzsäure. Das farbiges Reaktionsprodukt ist wahrscheinlich ein Komplex der Salicylsäure mit Eisen.

Nach Chiou u. Onyemelukwe (1973) beeinflußt das Quecksilberchlorid die Bildung des farbigen Reaktionsproduktes nicht, sondern dient nur zur Deproteinierung der Proben, so daß es wegen seiner potentiellen Toxizität bei Proben mit niedrigem Proteingehalt auch fortgelassen werden kann. Dementsprechend wurde für unsere Versuche Trinder-Reagenz ohne Quecksilberchlorid hergestellt: $\frac{1}{4}$ g Eisennitrat wurde in 12 ml 1 N HCl aufgelöst und der Ansatz mit entionisiertem Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Das Extinktionsspektrum des purpurfarbenen Salicylatkomplexes zeigte einen breiten symmetrischen Gipfel mit dem Maximum bei 525 nm (Abb. 22). Das Reaktionsprodukt erwies sich als mindestens 5 Stunden haltbar (Abb. 23). Eine Standardkurve von Salicylsäure in entionisiertem Wasser verlief linear bis zu einer Konzentration von 80 $\mu\text{g/ml}$ (Abb. 24). Um das optimale Volumenverhältnis von Testflüssigkeit und Reagenz zu ermitteln, wurde ein Aliquot von jeder der drei in unseren Versuchen vorkommenden Lösungen (entionisiertes Wasser, und Phosphatpuffer pH 7,0 mit und ohne Mundkontakt, die alle 200 $\mu\text{g/ml}$ Salicylsäure enthielten) mit ansteigenden Volumina Trinder-Reagenz titriert und gegen entsprechende Leerwerte photometriert (Abb. 25). An den durch Sternchen markierten Punkten trat eine Trübung auf, die durch fünfminütiges Zentrifugieren bei 3000 U/min entfernt werden konnte. Diese Trübung erschien auch, wenn dem Reagenz Quecksilberchlorid beigegeben war. Da bei einem Volumenverhältnis von einem Teil Probenlösung und drei Teilen Reagenz der Ausfällungsprozeß offenbar quantitativ erschöpft war, wurde dieses Volumenverhältnis für die experimentellen Salicylsäurebestimmungen ausgewählt.

Die Beimischung von Speichel in den Proben mit Mundkontakt bedingte eine Abschwächung der Farbreaktion gegenüber den

Proben ohne Mundkontakt. Um die Extinktionswerte beider Probenarten miteinander vergleichen zu können, wie es zur Berechnung der Resorption nötig war, mußte ein Umrechnungsfaktor ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurden bei vier Gelegenheiten jeweils ein Paar von Standardkurven (0 bis 80 $\mu\text{g/ml}$) von Puffer mit und ohne Mundkontakt erstellt und das Verhältnis der Steigungen berechnet. Die vier Einzelquotienten waren 0,8597, 0,8892, 0,8579 und 0,8898. Der Mittelwert 0,8742 diente als der gesuchte Umrechnungsfaktor.

Der vollständige Assay für Salicylsäure verlief nunmehr folgendermaßen:

1 ml Testflüssigkeit bzw. Initiallösung wurde mit 3 ml Trinder-Reagenz (ohne Quecksilberchlorid) geschüttelt und für 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde bei 525 nm gegen einen entsprechenden Leerwert photometriert. Die Extinktionen der Testflüssigkeiten mit Mundkontakt waren ein direktes Maß für die Endkonzentrationen, während die Extinktionen der Initiallösungen mit dem Umrechnungsfaktor 0,8742 multipliziert werden mußten, um die richtigen Konzentrationen zu erhalten.

Das Trinder-Reagenz gab Farbreaktionen weder mit Propranolol, noch mit Atenolol oder Chinin; Phenolrot zeigte eine konzentrationsabhängige Eigenextinktion bei 525 nm (Tab. 5). Aus diesem Grunde wurde der Marker Phenolrot in der Polysorbat-Studie fortgelassen.

2.2.3. Physikochemische Eigenschaften von Propranolol und Atenolol

Dissoziationskonstante

Aus der Henderson-Hasselbalch-Gleichung ergibt sich, daß wenn die Konzentrationen der dissoziierten und der undissoziierten Form einer schwachen Säure oder Base im Gleichgewicht dieselben sind, der aktuelle pH-Wert der Lösung den pKa-Wert des betreffenden Elektrolyten widerspiegelt. Zur Ermittlung der pKa-Werte würde es also grundsätzlich genügen, zu Lösungen bekannter Molarität von Atenolol, einer schwachen Base, bzw. Propranolol-Hydrochlorid, dem Salz einer schwachen Base mit einer starken Säure, die halbe Anzahl Mole einer starken Säure bzw. Base hinzuzugeben und die resultierenden pH-Werte zu messen. In unserem Labor wurde jedoch eine verlässlichere Methode angewandt; sie beruht darauf, daß schwache Säuren und Basen im pH-Bereich ihres pKa-Wertes als Puffer wirken, was in der Titrationskurve als eine Schulter imponiert. Der pKa ist der Ordinatenwert des Wendepunktes in der Mitte der Schulter, er kann aus der Titrationskurve geometrisch konstruiert werden.

Der pH-Wert einer Propranolol-Hydrochlorid-Lösung, die mit NaOH alkalisiert worden war, erwies sich als nicht zeitstabil (Tab. 6): Innerhalb von zwei Minuten nach Zugabe der Lauge begann der pH-Wert zu fallen und stellte sich im Laufe von etwa 30 Minuten bei einem neuen pH-Wert etwa 0,6 Einheiten unterhalb des ursprünglichen ein. Gleichzeitig wandelte sich die milchige Trübung - im Alkalischen ausgefällte undissoziierte Base - in eine kristalloide Flokkulation um. Wegen der zeitabhängigen Veränderlichkeit

des pH wurde keine kontinuierliche Büretten-Titration ausgeführt, sondern eine Meßreihe von Einzelproben aufgestellt:

Zu einer Serie von 40 Reagenzgläsern, von denen jedes 2 ml einer 0,01 M Propranolol-Hydrochlorid-Lösung enthielt, wurde in ansteigender Menge 0,01 N NaOH pipettiert, und zwar mit einem Volumeninkrement von 0,2 bzw. 0,4 ml. Sofort nach Zugabe der Lauge wurde jedes Reagenzglas für einige Sekunden geschüttelt und der pH-Wert mit einem Digital-pH-Meter gemessen, welches auf pH 9,2 kalibriert war. Obgleich im Falle von Atenolol keine zeitabhängige Veränderung des pH-Wertes beobachtet worden war, wurde auch hier die Titration in ähnlicher Weise ausgeführt: Zu einer Serie von 55 Reagenzgläsern, von denen jedes 1 ml einer 0,01 M Atenolol-Lösung enthielt, wurde mit einem Volumeninkrement von 0,05 bzw. 0,1 ml 0,005 N Salzsäure pipettiert. Sofort nach Zugabe des Titrans wurde jedes Reagenzglas geschüttelt und der pH-Wert gemessen. Die Temperaturen der Proben wurden nicht individuell gemessen; alle Lösungen waren auf Raumtemperatur (24° C) eingestellt.

Der Wendepunkt der Schultern in den Titrationskurven wurde bestimmt, indem ein Paar paralleler Tangenten an die Krümmungen zu beiden Seiten der Schulter angelegt und eine dritte Parallele genau zwischen diese beiden konstruiert wurde (vgl. Abb. 27). Die mittlere Parallele schnitt die Titrationskurve im Wendepunkt. Der pKa-Wert wurde als der pH-Wert des Wendepunktes auf der Ordinatenachse abgelesen.

Wasserlöslichkeit

Wasserlöslichkeit kann definiert werden als die maximale Anzahl von Molen oder Gramm einer Substanz, die von einem bestimmten Volumen Wasser in Lösung gehalten werden kann, mithin als eine "Maximalkonzentration unter Grenzbedingungen".

Die Wasserlöslichkeit von schwachen Elektrolyten ist in der Regel schon im mittleren pH-Bereich von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung abhängig. Sie umfaßt sowohl die Löslichkeit der ionisierten als auch der nicht ionisierten Form der Elektrolyte. Mit Martin et al. (1975) darf man, ohne einen zu großen Fehler zu machen, annehmen, daß 1. alle ionisierte Substanz gelöst und 2. die Wasserlöslichkeit des nicht ionisierten Anteils konstant und substanzspezifisch ist. Veränderungen der Gesamtlöslichkeit bei variierendem pH werden den Veränderungen des Dissoziationsgrades zugeschrieben.

Die Beziehung zwischen dem Dissoziationsgrad einer Substanz und dem pH ist durch die Henderson-Hasselbalch-Gleichung gegeben. Für den Fall von Löslichkeiten (statt Konzentrationen) nimmt sie nach Martin et al. (1975) folgende Form an:

$$\text{pH}_{\text{lim}} = \text{pK}_a + \log \frac{S_0}{S - S_0} \quad (\text{für eine Base}). \quad (\text{Gl. 11})$$

S_0 steht für die konstante, substanzspezifische Löslichkeit des nicht ionisierten Anteils, pH_{lim} für den pH unter der Grenzbedingung von Sättigung. $S - S_0$, die Differenz zwischen Gesamtlöslichkeit und Löslichkeit des nicht ionisierten Anteils, gibt die Konzentration der ionisierten

Substanz an. pH_{lim} und S können experimentell ermittelt werden, und S_0 kann dann berechnet werden entsprechend

$$S_0 = S / (1 + 10^{(\text{pKa} - \text{pH}_{\text{lim}})}). \quad (\text{Gl. 12})$$

Die Grenzbedingung der Sättigung wird erreicht entweder durch Alkalisieren einer Lösung bis die Ausfällung gerade bevorsteht, oder durch Zugabe von Substanz zu einer Lösung bis keine weitere Substanz mehr lösbar ist. Der erste Weg wurde für Propranolol beschritten, der zweite für Atenolol, weil hier unter den experimentellen Bedingungen eine Alkalisierung der Lösung keine Trübung hervorrufen konnte.

Zu einer Serie von Reagenzgläsern, von denen jedes 2 ml einer 3 mg/ml ($\sim 0,01$ M) Propranolol-Hydrochlorid-Lösung enthielt, wurde 0,01 N NaOH in ansteigenden Mengen mit einem Volumeninkrement von 0,05 ml gegeben. Ein jedes Reagenzglas wurde geschüttelt und sofort sein pH-Wert und seine Temperatur gemessen. Das Volumen NaOH, welches in einem Reagenzglas gerade eine gegen einen schwarzen Hintergrund erkennbare Trübung hervorrief, wurde notiert und mit seiner Hilfe die Propranolol-Endkonzentration als der experimentelle Wert für S berechnet.

Eine Menge von etwa 50 mg Atenolol in einem Papierschiffchen wurde mit Tara auf ein Zehntelmilligramm genau abgewogen. Von diesem "Vorrat" wurden mit einem Spatel kleinste Mengen des Pulvers zu 2 ml entionisiertem Wasser in einem Reagenzglas gegeben und das Reagenzglas auf einem Rotationsmischer geschüttelt. Als gerade keine weitere Substanz mehr in Lösung ging, sondern als Pulver gegen einen

schwarzen Hintergrund erkennbar blieb, wurde die weitere Zugabe beendet. pH-Wert und Temperatur der Lösung wurden gemessen, ebenso wurde das Papierschiffchen erneut gewogen, um mittels der Gewichts Differenz die Endkonzentration der Lösung zu bestimmen.

Mit bekanntem S_0 konnten für verschiedene pH-Werte die erwarteten (Gesamt-)Löslichkeiten berechnet werden. Dazu wurde Gl. 12 in einer Umformung benutzt, die S als Funktion des pH darstellt:

$$S(pH) = S_0 \cdot (1 + 10^{(pK_a - pH)}), \quad (Gl. 13)$$

Verteilungskoeffizient

Die Verteilungskoeffizienten von Propranolol und Atenolol wurden als die Verteilungskoeffizienten der nicht dissoziierten Substanz (P_u) in acht organischen Lösemitteln (n-Heptan, Benzol, Toluol, Chloroform, Amylalkohol, Diäthyläther, Octanol und Äthylacetat) mit 0,1 N NaOH als wäßriger Phase bestimmt, diejenigen von Chinin und Salicylsäure in n-Heptan und Octanol mit 0,1 N NaOH bzw. 0,1 N HCl als wäßrigen Phasen. Vor den Versuchen waren die organischen Lösemittel mit den wäßrigen Phasen equilibriert worden. Alle Lösungen waren auf Raumtemperatur (24° C) eingestellt; individuelle Temperaturmessungen wurden nicht vorgenommen.

Zur Bestimmung der Verteilungskoeffizienten von Propranolol und Atenolol in n-Heptan wurde eine andere als die weiter unten angegebene allgemeine Methode benutzt: 8 mg Arzneistoff wurden mit 40 ml 0,1 N NaOH und 40 ml n-Heptan in einem 250-ml-Scheidetrichter für 30 Minuten mechanisch geschüttelt. Die Arzneistoffkonzentration der unteren wäßrigen Schicht (c_w) wurde fluoreszenzphotometrisch bestimmt. Die Konzentration in der Lipidphase (c_l) wurde aus der Konzentration der wäßrigen Phase, den bekannten Volumina und der Arzneistoffmenge berechnet:

$$c_l (\text{mg/ml}) = \frac{8 \text{ mg} - (40 \text{ ml} \cdot c_w (\text{mg/ml}))}{40 \text{ ml}} \quad (\text{Gl. 14})$$

Der Verteilungskoeffizient P_u war der Quotient dieser Konzentrationen entsprechend:

$$P_u = c_l / c_w. \quad (\text{Gl. 15})$$

Für Propranolol und Atenolol in allen anderen organischen Lösemitteln sowie für Chinin und Salicylsäure wurde folgende Methode angewandt:

Von jedem Arzneistoff wurde eine Stammlösung in 0,1 N NaOH (für die Basen) oder 0,1 N HCl (für Salicylsäure) hergestellt. Die gewählten Konzentrationen waren von der oberen Grenze der Linearität der Assays. 5 ml Stammlösung wurden zu 5 ml organischem Lösemittel in ein Quickfit^R-Zentrifugenglas pipettiert, 30 Minuten mechanisch geschüttelt und 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Die wäßrige Phase wurde abpipettiert und ihre Arzneistoffkonzentration

gemessen. Ebenso wurde die Konzentration der Stammlösung gemessen. Mit den erhaltenen Werten für die Konzentration vor und nach der Equilibrierung, c_i und c_e , wurde der Verteilungskoeffizient P entsprechend

$$P_u = \frac{c_i - c_e}{c_e} \quad (\text{Gl. 16})$$

berechnet.

2.2.4. Der bukkale Resorptionstest

Die Versuche zur Resorption durch die Mundschleimhaut wurden nach einem Grundschemata durchgeführt, das im folgenden beschrieben wird. Experimentelle Abweichungen in den Einzelstudien werden in den entsprechenden Kapiteln des methodischen Teils angeführt.

1. Der Proband spülte seinen Mund 30 Sekunden lang mit 20 ml reiner Pufferlösung. Die Spülflüssigkeit wurde verworfen.
2. 20 ml der Testlösung - bestehend aus den Arzneistoffen und Phenolrot, gelöst in Pufferlösung - wurden in den Mund genommen, möglichst ohne zu schlucken 5 Minuten in der Mundhöhle behalten und dabei durch periodisches Betätigen von Zunge und Wangen ständig bewegt. Am Ende

der Kontaktzeit wurde die Testflüssigkeit in einen 50 ml Meßzylinder ausgespien.

3. Der Proband spülte seinen Mund anschließend mit 20 ml reiner Pufferlösung über 10 Sekunden. Die Spülflüssigkeit wurde in einem Becherglas aufbewahrt.

Volumen und pH-Wert der Testflüssigkeit (2.) wurden gemessen und als V_e und pH_e aufgezeichnet. Das Volumen wurde an der unteren Grenze des Schaumes abgelesen, der sich regelmäßig in einer 2 bis 10 mm dicken Schicht bildete; zu dem abgelesenen Wert wurden einheitlich 0,3 ml für den Schaum addiert. Die Spülflüssigkeit (3.) wurde zu der Testlösung in den Meßzylinder überführt und das Volumen bis zur 50 ml-Marke mit entionisiertem Wasser aufgefüllt.

Analog wurde ein 20 ml Aliquot der Initiallösung auf 50 ml verdünnt.

Die Proben wurden geschüttelt, gefiltert (Whatman 42 Filterpapier), und, sofern die Konzentrationsbestimmungen nicht sofort vorgenommen werden konnten, in Plastikbechern mit Schraubverschluß bei -4°C aufbewahrt.

2.2.5. Berechnung der Resorption unter Berücksichtigung der Störfaktoren Schlucken und Speichelsekretion

Am Ende eines bukkalen Resorptionstests lagen Meßwerte für die folgenden fünf Parameter vor:

$c_{a,i}$ und $c_{a,e}$, die Initial- und Endkonzentrationen des Arzneistoffes in den verdünnten 50 ml-Proben; $c_{m,i}$ und $c_{m,e}$, die Initial- und Endkonzentrationen des Markers in den verdünnten 50 ml-Proben, und V_e , das Endvolumen. Das Initialvolumen V_i war in unseren Versuchen immer 20 ml. Die Konzentrationen vor dem Verdünnen (c^*) konnten mit dem Verdünnungsfaktor aus den Konzentrationen der 50 ml-Proben (c) berechnet werden:

$$c^*_{m;a,e} = c_{m;a,e} \cdot \frac{50}{V_e} , \quad (Gl. 17)$$

$$c^*_{m;a,i} = c_{m;a,i} \cdot \frac{50}{V_i} . \quad (Gl. 18)$$

Da für das Ansetzen der Testlösungen nur Konzentrationen aus dem linearen Bereich der Standardkurven verwendet worden waren, durften die fluoreszenzphotometrischen und photometrischen Ablesungen wie Konzentrationen in die Rechnungen eingesetzt werden.

Die Gleichungen zur Berechnung von Resorption, Schlucken und Speichelsekretion wurden auf der Basis von zwei Annahmen hergeleitet:

1. Als resorbiert sollte die Arzneistoffmenge gelten, die am Ende der Kontaktzeit nicht durch Ausspeien und Mundspülen wiedergewonnen werden konnte, die aber auch nicht verschluckt worden war. Resorbiert war also die Arzneistoffmenge, die übrigblieb, wenn man von der Anfangsmenge D_i die durch Schlucken verlorene Menge D_{sk} sowie die durch Ausspeien und Mundspülen wiedergewonnene Menge D_e abzog:

$$D_{res} = D_i - D_{sk} - D_e \quad . \quad (Gl. 19)$$

Als von der Initialdosis D_i unabhängiges Maß der Resorption wurde der "Prozentsatz der Resorption", $\% res$, definiert:

$$\% res = \frac{D_{res}}{D_i} \cdot 100 \quad . \quad (Gl. 20)$$

2. Die andere Annahme war, daß man sich das Endvolumen V_e in zwei Schritten entstanden denken konnte (vgl. dazu Abb. 26): Zunächst würde das Initialvolumen V_i um den Betrag des verschluckten Volumens V_{sk} vermindert, und das resultierende hypothetische Volumen V_x würde dann durch Speichelfluß zum Endvolumen V_e aufgefüllt.

Durch die Annahme des hypothetischen Volumens V_x konnten die Volumina für Schlucken und Speichelsekretion, V_{sk} und V_{sal} , unmittelbar als die entsprechenden Volumendifferenzen angegeben werden:

$$V_{sk} = V_i - V_x , \quad (Gl. 21)$$

$$V_{sal} = V_e - V_x . \quad (Gl. 22)$$

V_x läßt sich nach Art eines Clearance-Volumens bestimmen, indem man die in V_e enthaltene Menge Marker (M_e) auf zwei verschiedene Weisen als Volumen-Konzentrations-Produkt ausdrückt:

$$M_e = V_e \cdot c_{m,e}^* , \quad (Gl. 23)$$

$$M_e = V_x \cdot c_{m,i}^* . \quad (Gl. 24)$$

Diese Gleichungen sind äquivalent und ergeben - nach Einsetzen von Gl. 17 in Gl. 23 und Gl. 18 in Gl. 24 - :

$$V_e \cdot c_{m,e} \cdot \frac{50}{V_e} = V_x \cdot c_{m,i} \cdot \frac{50}{V_i} . \quad (Gl. 25)$$

Gl. 25 wurde gekürzt und V_x isoliert:

$$V_x = V_i \frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} . \quad (Gl. 26)$$

Zur Berechnung der Resorption wurden die Arzneistoffmengen auf der rechten Seite von Gl. 19 durch entsprechende Volumen-Konzentrations-Produkte dargestellt.

$$\begin{aligned}
 D_i &= V_i \cdot c_{a,i}^* \\
 &= V_i \cdot c_{a,i} \cdot \frac{50}{V_i}, \quad (\text{Gl. 27})
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 D_{sk} &= V_{sk} \cdot c_{a,i}^* \\
 &= (V_i - V_x) \cdot c_{a,i} \cdot \frac{50}{V_i}, \quad (\text{Gl. 28})
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 D_e &= V_e \cdot c_{a,e}^* \\
 &= V_e \cdot c_{a,e} \cdot \frac{50}{V_e}. \quad (\text{Gl. 29})
 \end{aligned}$$

Durch Einsetzen von Gl. 26 in Gl. 28, sowie von Gl. 27 - 29 in Gl. 19 erhält man:

$$D_{res} = 50 \left(\frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} c_{a,i} - c_{a,e} \right). \quad (\text{Gl. 30})$$

Abschließend werden die Gleichungen 30 und 27 in Gleichung 20 eingesetzt:

$$\% \text{ res} = \left(\frac{c_{m,e}}{c_{m,i}} - \frac{c_{a,e}}{c_{a,i}} \right) \cdot 100. \quad (\text{Gl. 31})$$

2.2.6. Konzentrationsabhängigkeit der Resorption

Die Experimente zur Konzentrationsabhängigkeit der bukkalen Resorption wurden mit den Prüfsubstanzen Propranolol und Atenolol an einer Versuchsperson (W.S.) durchgeführt. Die Arzneistoffe wurden getrennt untersucht, Propranolol in den Konzentrationen 0,5, 1, 2, 4, 10 und 16 µg/ml, Atenolol in den Konzentrationen 10, 20, 40, 80 und 320 µg/ml. Die Arzneistoffe waren in 0,14 M Sörensen-Phosphatpuffer pH 7,4 gelöst (Documenta Geigy, 1975, S. 274); die gewählte Pufferkonzentration war plasma-isoton (300 mosm; Tab. 7).

In dieser Studie wurde noch kein Marker verwendet. Die Resorption berechnete sich dementsprechend als

$$\% \text{ res} = \left(1 - \frac{c_{a,e}}{c_{a,i}}\right) \cdot 100 . \quad (\text{Gl. } 32)$$

An jedem Konzentrationspunkt wurden drei Propranolol- und zwei Atenololversuche ausgeführt; bei 0,5 und 10 µg/ml Propranolol wurden jedoch sechs Versuche ausgeführt, um die Standardabweichung als Maß der intra-individuellen Variation berechnen zu können.

2.2.7. pH-Abhängigkeit der Resorption

Die Experimente zur pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol wurden in zwei Serien mit je vier Bestimmungen bei jedem pH durchgeführt. In einer Serie wurden alle Versuche an einer Versuchsperson (W.S.), in einer anderen an jeweils vier verschiedenen Probanden ausgeführt. Von den insgesamt 15 Probanden (6 Männern und 9 Frauen im Alter von 20 bis 34 Jahren) nahm einer dreimal, zwölf zweimal und drei einmal an den Versuchen teil (Tab. 8). Die Probanden waren unbezahlt und nach eigenen Angaben zur Zeit des Tests körperlich gesund.

Als Pufferlösungen wurden benutzt: McIlvaine-Zitronensäure/Phosphatpuffer für pH 5 und 6, Sørensen-Phosphatpuffer für pH 7 und 8, und Sørensen-Glycinpuffer für pH 9 und 10 (Documenta Geigy, 1975, S. 274). Die Konzentration von Sørensen-Phosphatpuffer betrug 0,14 M (300 mosm). Alle anderen Puffer wurden mit konzentrierter Kochsalzlösung auf 300 ± 5 mosm eingestellt und ihr pH-Wert danach noch einmal überprüft.

Die Arzneistoff- und Markerkonzentrationen der Testlösungen waren: 4 µg/ml Propranolol-Hydrochlorid, 60 µg/ml Atenolol und 5 µg/ml Phenolrot.

Für jede Gruppe von vier Resorptionswerten bei einem pH wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Unter der Annahme, daß sich die pH-Verschiebung während der Kontaktzeit linear vollzog, wurde der "Versuchs-pH" (pH) als der Mittelwert der pH-Werte in der Mitte der Kontaktzeit entsprechend

$$\text{pH} = \text{pH}_i + \frac{1}{2} \frac{(\text{pH}_e - \text{pH}_i)}{n} \quad (\text{Gl. 33})$$

berechnet, wobei pH_i und pH_e die gemessenen Anfangs- und End-pH-Werte der Testlösungen bezeichneten und $n = 4$ war.

Bei den pH-Punkten 8, 9 und 10 wurde der U-Test von Mann-Whitney-Wilcoxon (Biomathematik für Mediziner, 1975, S. 165) angewendet, um zu ermitteln, ob der Unterschied zwischen den beiden Gruppen (ein Proband und 15 Probanden) signifikant war.

2.2.8. Zeitabhängigkeit der Resorption

Um den Zeitverlauf der Resorption von Propranolol und Atenolol kennenzulernen, wurde der bukkale Resorptionstest mit den Kontaktzeiten 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 und 300 Sekunden angewandt. Bei jeder Kontaktzeit wurden vier Tests an einer Versuchsperson (W.S.) durchgeführt.

Die Testlösungen wurden mit Sörensen-Glycinpuffer pH 10,45 (Documenta Geigy, 1975, S. 274) hergestellt, der mit konzentrierter Kochsalzlösung auf 300 mosm gebracht worden war. Die Arzneistoff- und Markerkonzentrationen betrugen 4 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid, 70 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol und 5 $\mu\text{g/ml}$ Phenolrot. Die Reihenfolge der Kontaktzeiten war vor Versuchsbeginn festgelegt worden (Tab. 9).

Der Prozentsatz des nichtresorbierten Arzneistoffes, % nonres, wurde über den Prozentsatz der Resorption ermittelt:

$$\% \text{ nonres} = 100 - \% \text{ res.}$$

(Gl. 34)

Die Mittelwerte bei jeder Kontaktzeit wurden als die zur Zeit t noch im Kompartiment A (der Mundhöhle) verbleibende Arzneistoffmenge $D_A(t)$ bezeichnet und einem Kurvenanpassungsverfahren für die bi-exponentielle Funktion

$$D_A(t) = X_1 e^{-at} + X_2 e^{-bt} \quad (\text{Gl. 35})$$

unterworfen. Das Programm lieferte - in einem Verfahren zur Minimierung der Summe der Abweichungsquadrate - die Werte der Parameter X_1 , a , X_2 und b .

2.2.9.° Einfluß von Polysorbat auf die Resorption

Der Einfluß von Polysorbat 80 auf die bukkale Resorption wurde an einer Versuchsperson (W.S.) mit den Arzneistoffen Propranolol, Atenolol, Chinin, Salicylsäure und Digoxin untersucht. Der Marker Phenolrot wurde wegen seiner Interferenz mit dem Salicylsäure-Assay weggelassen (s.o. S. 34). Während die Arzneistoffkonzentration konstant gehalten wurde, nahm die Polysorbatkonzentration von 0 auf 10, 100, 1000 und 10 000 $\mu\text{g/ml}$ zu. Mit jeder Konzentration wurden vier Versuche durchgeführt.

500 ml einer Test-Stammlösung wurde vorbereitet, die 10 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid, 100 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol, 3 $\mu\text{g/ml}$ Chinin-Sulfat, 200 $\mu\text{g/ml}$ Salizylsäure und 1 $\mu\text{g/ml}$ Digoxin in Sörensen-Phosphatpuffer pH 7,0 enthielt. Ebenso wurden vier Polysorbatlösungen mit 0,2, 2, 20 und 200 mg/ml vorbereitet. Die erwünschten Polysorbatkonzentrationen in den Test- und Spüllösungen konnten nun durch Zugabe von 1 ml Polysorbatstandard zu 19 ml Test-Stammlösung bzw. reiner Phosphatpuffer-Lösung pH 7,0 leicht hergestellt werden.

Die einleitende Mundspülung, 30 Sekunden in der allgemeinen Methode, wurde in diesem Fall auf drei Perioden zu je 5 Minuten ausgedehnt. Die Gesamtkontaktzeit für Polysorbat betrug mithin 20 Minuten.

Die Reihenfolge der Experimente war vor Versuchsbeginn mit der Hilfe von Zufallszahlen randomisiert worden (Biomathematik für Mediziner, 1975, S. 131). Zwischen den Versuchen wurden Abstände von 8 Stunden eingehalten.

3. Ergebnisse

3.1. Physikochemische Eigenschaften von Propranolol und Atenolol

Dissoziationskonstante

In Abb. 27 und 28 sind die Titrationskurven von Propranolol und Atenolol dargestellt. Beide Substanzen zeigten als einwertige Basen jeweils nur eine Schulter durch Pufferwirkung. Die pKa-Werte wurden geometrisch als 9,45 im Falle von Propranolol und als 9,60 im Falle von Atenolol ermittelt.

Wasserlöslichkeit

Die experimentellen Daten und die aus ihnen berechneten S_0 -Werte sind in Tab. 10 wiedergegeben. Die Wasserlöslichkeit für die nicht ionisierte Form von Propranolol beträgt 0,07 mg/ml, diejenige für Atenolol 9,5 mg/ml bei 24° C. Die Abhängigkeit der (Gesamt-)Löslichkeiten vom pH ist in Tab. 11 dargestellt. Bei physiologischem pH ist Atenolol etwa 190mal besser wasserlöslich als Propranolol.

Verteilungskoeffizienten

Die Verteilungskoeffizienten für Propranolol und Atenolol wurden in den Tabellen 12 und 13 aufgelistet. Tab. 14 und 15 geben außerdem die Verteilungskoeffizienten von Chinin und Salicylsäure an. Tab. 16 enthält die Dielektrizitätskonstanten der untersuchten organischen Lösemittel als Maß

ihrer Polarität. Diese Werte wurden der Literatur entnommen. In Abb. 29 wurden die Logarithmen der Verteilungskoeffizienten von Propranolol und Atenolol gegen die Dielektrizitätskonstanten der organischen Lösemittel aufgetragen.

Bei allen untersuchten organischen Lösemitteln war der Verteilungskoeffizient von Propranolol erheblich höher als der von Atenolol. Die Differenz war am größten bei den Lösemitteln geringer und mittlerer Polarität,

Salicylsäure und Chinin weisen beide hohe Verteilungskoeffizienten gegenüber Octanol und niedrige gegenüber n-Heptan auf. Die lipophilen Eigenschaften ihrer nicht ionisierten Formen sind somit ähnlich.

3.2. Bukkale Resorption

3.2.1. Schlucken und Speichelsekretion

Schlucken und Speichelsekretion wurden an einem trainierten und 15 untrainierten Probanden als Teil der Studie zur pH-Abhängigkeit der Resorption untersucht. In den beiden Gruppen wurden bei jedem pH vier Versuche durchgeführt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Volumina V_{sk} und V_{sal} sind in Tab. 17 und 18 aufgelistet bzw. in Abb. 30 und 31 graphisch dargestellt.

Sowohl Speichelsekretion als auch Schlucken sind am größten bei saurem pH. Die Speichelproduktion von durchschnittlich

9 ml in 5 Minuten bei pH 5 entspricht einer Salivationsrate unter Säurestimulation von 1,8 ml/min.

Die untrainierten Probanden verschluckten durchweg mehr Testflüssigkeit als der trainierte. Schlucken war minimal bei pH 8; es erreichte hier auch bei den untrainierten Probanden weniger als 3 % des Initialvolumens.

3.2.2. Konzentrationsabhängigkeit der Resorption

Die Ergebnisse der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol sind in Tab. 19 und 20 zusammengestellt und in Abb. 32 graphisch dargestellt.

Bei allen untersuchten Konzentrationen betrug die Resorption von Propranolol etwa 42 % und diejenige von Atenolol maximal 3 %. Die Resorptionsrate (% res) erwies sich als unabhängig von der Konzentration der Testlösung, d.h. die resorbierte Arzneistoffmenge war proportional der Konzentration.

3.2.3. pH-Abhängigkeit der Resorption

Die Resorption von Propranolol und Atenolol in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration ist in Tab. 21 und 22 aufgelistet und in Abb. 33 und 34 graphisch dargestellt.

Die Resorptionsergebnisse der beiden "Gruppen" (1 Proband, $n = 4$, und 15 Probanden, $n = 4$ bei jedem pH) verhielten sich qualitativ gleich. Ein signifikanter Unterschied ergab sich lediglich bei der Resorption von Propranolol bei pH 10.

Die Resorption von Atenolol war weitgehend unabhängig vom pH und niedrig; negative Werte kamen vor. Die Resorption von Propranolol nahm mit zunehmendem pH in Form einer charakteristischen S-förmigen Kurve zu.

3.2.4. Zeitabhängigkeit der Resorption

Die Ergebnisse zur Zeitabhängigkeit der Resorption sind in Tab. 23 zusammengestellt. In Abb. 35 wurde der Prozentsatz des nichtresorbierten Arzneistoffes halblogarithmisch gegen die Kontaktzeit aufgetragen.

Atenolol wird während der ganzen fünfminütigen Kontaktzeit nicht resorbiert. Die Nichtlinearität der Resorptionskurve

im Falle von Propranolol zeigt an, daß der Zeitverlauf der Resorption nicht einer Mono-Exponentialfunktion folgt.

3.2.5. Einfluß von Polysorbat auf die Resorption

Die Resorptionswerte für die fünf Arzneistoffe Propranolol, Atenolol, Chinin, Salizylsäure und Difoxin sind in Tab. 24 zusammengestellt und in Abb. 36 und 37 gegen die Polysorbat-Konzentrationen aufgetragen worden.

Bei keiner Polysorbat-Konzentration war die Resorption eines Arzneistoffes gegenüber derjenigen ohne Polysorbat statistisch signifikant verändert (U-Test von Mann-Whitney-Wilcoxon, $\alpha = 0,05$, Biomathematik für Mediziner, 1975, S. 165).

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methoden

Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung von Propranolol, Atenolol und Chinin erwies sich als einfach, schnell und zuverlässig - mit einer Einschränkung allerdings: Bei Atenolol wurde wiederholt eine scheinbar negative Resorption gefunden, für die es nicht gelang, einen methodischen Fehler nachzuweisen (S. 23). Es scheint auch, daß für Atenolol die fluoreszenzphotometrische Methode nicht sensitiv genug sein dürfte, um Konzentrationen in Körperflüssigkeiten zu bestimmen; seine Fluoreszenzkapazität ist auf molarer Basis etwa 6,6mal und auf Gewichtsbasis sogar 15mal geringer als die von Propranolol (Tab. 1). Eine gaschromatographische Methode zur Bestimmung von Atenolol ist beschrieben worden (Scales und Copsey, 1975).

Auch die benutzte Trinder'sche Methode zur Bestimmung von Salicylsäure war relativ unempfindlich. Für Konzentrationsmessungen aus Körperflüssigkeiten liegt eine fluoreszenzphotometrische Methode vor (Saltzman, 1948).

Die von uns hergeleitete Gleichung zur Berechnung des Prozentsatzes der Resorption (Gl. 31) bestätigte Schanker et al. (1957), die die Resorption nach

"Per cent absorbed =

$$100 - 100 \left(\frac{c_{\text{drug final}}}{c_{\text{drug initial}}} \times \frac{c_{\text{indicator initial}}}{c_{\text{indicator final}}} \right) "$$

berechneten. Die Gleichungen sind äquivalent.

Die Kontrolle der Messungen der bukkalen Resorption durch einen nichtresorbierbaren Marker erscheint sinnvoll in den Studien zur pH-Abhängigkeit der Resorption und bei untrainierten Probanden. Im Anstieg der Speichelvolumina bei abnehmenden pH (Abb. 30 und 31) manifestierte sich die Säurestimulierbarkeit der Salivation (Dawes u. Jenkins, 1964). Die vergrößerten Testvolumina bei saurem pH sind vermutlich die Ursache für ein verstärktes Schlucken, und dies sollte durch den Gebrauch eines Markers kontrolliert werden. Andererseits ist bei physiologischem oder leicht alkalischem pH und trainierten Probanden der zu erwartende Verlust von Testflüssigkeit durch Schlucken so gering (etwa 1 - 3 %), daß hier der Marker auch fortgelassen werden könnte, ohne daß der Gesamtfehler erheblich zunähme.

Die von uns gefundenen Werte für den pKa und den n-Heptan-Verteilungskoeffizienten von Propranolol bestätigen genauestens die Werte der auf Seite 11 zitierten Arbeit von Hicks (1973). Ein pKa-Wert von 9,45 für Propranolol wird außerdem bei Smith u. Rawlins (1973, S. 163) angegeben.

4.2. Beschreibung der bukkalen Resorption durch ein physikalisches Modell der Mundschleimhaut

In der vorgefundenen Literatur wurden die Ergebnisse der bukkalen Resorption überwiegend qualitativ auf dem Boden der Theorie der nicht-ionischen Diffusion interpretiert. In unseren Versuchen bestätigte die Unabhängigkeit des Prozentsatzes der Resorption von der Anfangskonzentration (Abb. 32) die Anschauung, daß die bukkale Resorption als einfache Diffusion vor sich geht.

In der Einleitung war als charakteristische Größe des Transfers einer Substanz durch eine Lipidmembran die Geschwindigkeitskonstante k hergeleitet worden. Die dabei wesentlichen Gleichungen seien hier noch einmal zusammengestellt:

$$f_u = 1 / (1 + 10^{(pK_a - pH)}) \quad \text{für eine Base,} \quad (Gl. 36)$$

$$f_u = 1 / (1 + 10^{(pH - pK_a)}) \quad \text{für eine Säure,} \quad (Gl. 37)$$

$$c_e = c_i \cdot e^{-k_{app} t}, \quad (Gl. 38)$$

$$c_e = c_i \cdot e^{-kt} \quad \text{und} \quad (Gl. 39)$$

$$k = k_{app} / f_u f_f. \quad (Gl. 40)$$

Die Testlösung zur bukkalen Resorption war proteinfrei. Der Proteingehalt des sich während der Kontaktzeit zumischenden

Speichels betrug mit etwa 340 mg/100 ml nur ein Zwanzigstel des Plasmaproteingehaltes (Documenta Geigy, 1975, S. 283). Propranolol, das im Plasma zu etwa 95 % proteingebunden ist, ist im Speichel zu weniger als 3 % proteingebunden (Mucklow et al., im Druck). Dies ließ es gerechtfertigt erscheinen, in den Testlösungen des bukkalen Resorptionstestes keinerlei Proteinbindung anzunehmen. Mit $f_f = 1$ vereinfachte sich Gl. 40 zu

$$k = k_{app} / f_u \quad (Gl. 41)$$

Zur quantitativen Interpretation der Ergebnisse der bukkalen Resorption in Abhängigkeit von der Wasserstoffkonzentration sollte die Geschwindigkeitskonstante der Resorption, k , als Funktion von pH und % res dargestellt werden. Dazu wurde k_{app} in Gl. 38 isoliert:

$$k_{app} = (1/t) \cdot \ln (c_i/c_e), \quad (Gl. 42)$$

und Gl. 42 sowie Gl. 36 oder Gl. 37 in Gl. 41 eingesetzt:

$$k = ((1 + 10^{(pK_a - pH)})/t) \cdot \ln(c_i/c_e) \text{ für eine Base, (Gl. 43)}$$

$$k = ((1 + 10^{(pH - pK_a)})/t) \cdot \ln(c_i/c_e) \text{ für eine Säure. (Gl. 44)}$$

Einsetzen von

$$c_i/c_e = 100 / (100 - \% \text{ res}) \quad (\text{Gl. 45})$$

in Gl. 43 und Gl. 44 ergab:

$$k = ((1 + 10^{(pK_a - pH)})/t) \cdot \ln(100/(100 - \% \text{ res}))$$

für eine Base, (Gl. 46)

$$k = ((1 + 10^{(pH - pK_a)})/t) \cdot \ln(100/(100 - \% \text{ res}))$$

für eine Säure. (Gl. 47)

Mit Gl. 46 wurde die Resorptionskonstante k für Propranolol an jedem der experimentellen pH-Punkte in Tab. 21 bzw. Abb. 33 aus der dort vorgefundenen Resorption berechnet. Es wurde erwartet, daß die erhaltenen Werte identisch oder annähernd identisch wären. Das Ergebnis dieser Berechnung ist in Tab. 25 und Abb. 38 dargestellt. Die wahre Resorptionskonstante von Propranolol erwies sich als nicht konstant gegenüber dem pH, sondern nahm von $149,9 \text{ min}^{-1}$ bei pH 5,08 auf $0,6 \text{ min}^{-1}$ bei pH 9,93 ab.

Dies war kein vereinzelter Befund. In Tab. 25 und Abb. 38 sind die Werte für die Resorptionskonstante einer Säure (p-n-Hexylphenyllessigsäure) wiedergegeben, wie sie aus Daten von Beckett u. Moffat (1969 a und b) mit Hilfe von Gl. 47 berechnet wurden. Auch hier war k nicht konstant gegenüber dem pH, doch war die Abweichung, die in Abb. 38 als Winkelabweichung der Geraden gegenüber der erwarteten Abszissenparallelen imponierte, entgegengesetzt wie bei der Base Propranolol.

Hogben et al. (1959) postulierten, daß es im Dünndarm der Ratte in unmittelbarer Nähe zur resorbierenden Oberfläche des Epithels einen bestimmten "virtuellen" pH gäbe, der verschieden sei vom pH des übrigen Lumens. In Equilibrierungsversuchen, bei denen Darm und Mesenterialarterie gleichzeitig perfundiert wurden, hatten diese Autoren Konzentrationsgefälle zwischen Darm- und Gefäßlumen erhalten, die einen saureren pH an der inneren Darmoberfläche widerspiegelten, als er in der Perfusionsflüssigkeit des Darmes gemessen worden war. Die Werte für den virtuellen pH bewegten sich zwischen 5,3 und 6,1, während der pH-Wert im Lumen bei 6,6 lag.

Es erscheint sinnvoll, das Konzept des virtuellen pH für die Situation bei der bukkalen Resorption inhaltlich zu übernehmen. Es ist denkbar, daß die wahren Resorptionskonstanten tatsächlich pH-unabhängig sind, daß aber der experimentelle pH-Wert nicht der richtige gewesen ist, um sie zu berechnen. Die Resorption könnte entsprechend einem virtuellen pH vor sich gegangen sein, der von dem für die Berechnung von k herangezogenen experimentellen pH abwich. Unter diesen Umständen wäre es aber konsequent, nicht nur einen einzigen, feststehenden virtuellen pH-Wert zu postulieren, sondern ein Puffersystem an der Membranoberfläche,

das jede experimentelle pH-Änderung im Lumen mit Richtung auf seinen Eigen-pH ($pH_{intr.}$) abschwächt und so für jeden experimentellen pH (pH) einen zugehörigen effektiven pH (pH_{eff}) erzeugt.

Ein Versuch, den Eigen-pH dieses Puffersystems zu bestimmen, wurde auf der Basis von folgender Annahme unternommen: Der in vitro-Verteilungskoeffizient P_u ist mit der in vivo-Resorptionskonstanten k so korreliert, daß bei gleichen Verteilungskoeffizienten P_u auch die Resorptionskonstanten k verschiedener Substanzen gleich sind. Da es für die Resorption von unionisierten Molekülen innerhalb der Lipidmembran unbedeutend ist, ob sie von Säuren oder Basen stammen, gilt auch, daß die unionisierten Formen einer Säure und einer Base mit derselben Geschwindigkeitskonstanten (k) durch die Lipidmembran resorbiert werden, wenn die Verteilungskoeffizienten (P_u) der Säure und der Base gleich sind.

Es ist aus Abb. 38 ersichtlich, daß eine pH-Verschiebung sich entgegengesetzt auf die Resorptionskonstanten einer Säure und einer Base auswirkt. Eine Säure und eine Base mit denselben Verteilungskoeffizienten (P_u) können also nur dann mit derselben Resorptionskonstanten (k) resorbiert werden, wenn der effektive pH an der Membranoberfläche nicht von dem experimentellen pH abweicht, d.h. bei einem pH , bei dem das Puffersystem keinen Einfluß ausübt. Das Puffersystem übt aber nur dann keinen (pH -verschiebenden) Einfluß aus, wenn der experimentelle pH-Wert derselbe ist wie sein Eigen-pH. Mit anderen Worten, an dem Punkt auf der pH-Skala, an dem eine Säure und eine Base mit identischen Verteilungskoeffizienten (P_u) mit derselben Geschwindigkeitskonstanten (k) resorbiert werden, gilt: $pH = pH_{intr.} = pH_{eff}$.

Für den Vergleich mit der Base Propranolol war die p-n-Hexylphenylelessigsäure gewählt worden, weil der Verteilungskoeffizient (P_u) dieser Säure im n-Heptan/0,1 N HCl-System mit 29,8 (Beckett u. Moffat, 1969b) praktisch identisch ist mit dem von Propranolol. In Abb. 38 wurden die Graphen der Resorptionskonstanten übereinandergezeichnet. Am Schnittpunkt der Linien läßt sich der Eigen-pH des Puffersystems als pH 6,7 ablesen.

Mit der wahren Resorptionskonstante bei pH 6,7 ($22,9 \text{ min}^{-1}$) kann der effektive pH zu jedem experimentellen pH berechnet werden; dazu werden die Gleichungen 46 und 47 nach pH aufgelöst:

$$\text{pH}_{\text{eff}} = \text{pKa} - \log((kt/\ln(100/(100-\% \text{res}))) - 1) \quad \text{für eine Base,} \quad (\text{Gl. 48})$$

$$\text{pH}_{\text{eff}} = \text{pKa} + \log((kt/\ln(100/(100-\% \text{res}))) - 1) \quad \text{für eine Säure.} \quad (\text{Gl. 49})$$

Die erhaltenen Werte sind in Tab. 25 eingefügt. Eine Vorstellung von der Pufferkapazität des Systems gibt die Abbildung 39, in der der effektive pH gegen den experimentellen pH aufgetragen wurde. Die Pufferkapazität - praktisch identisch bei den beiden bisher untersuchten Probanden - ist von der Größe, daß innerhalb gewisser Grenzen eine Veränderung des experimentellen pH von 2,86 Einheiten benötigt wird, um den effektiven pH um eine Einheit zu verschieben ($\Delta \text{pH} / \Delta \text{pH}_{\text{eff}} = 2,86$).

Ein anderer Weg, die Auswirkung des Puffersystems zu veranschaulichen, ist in Abb. 40 beschriftet worden. Dort wurde der empirisch vorgefundenen Resorption von Propranolol diejenige gegenübergestellt, die man erwarten müßte, wenn die

Theorie der nichtionischen Diffusion in ihrer bestehenden Form zuträfe. Isolieren von % res in Gl. 46 und Einsetzen der Werte für pK_a , t und k (9,45, 5 Minuten, $22,9 \text{ min}^{-1}$) stellte % res als Funktion des pH dar; es ergab sich eine steilere, prononciertere S-Kurve.

Die Methode zur Bestimmung von Eigen-pH und Pufferkapazität mittels eines "Säure-Basen-Paares" - eines Paares von einer Säure und einer Base mit gleichen Verteilungskoeffizienten P_u - dürfte Gültigkeit nur beanspruchen, wenn sie auch auf andere biologische Membranen anwendbar wäre. Ein zweites Säure-Basen-Paar wird in Chinin und Salicylsäure angetroffen, die einem polaren wie einem apolaren Lösungsmittel gegenüber gleiche Verteilungseigenschaften aufweisen (Tab. 14 und 15). Ein Datensatz für die pH-abhängige Resorption von Chinin und Salicylsäure sowie ihre pK_a -Werte sind bei Brodie (1964) angegeben. Sinngemäßes Anwenden der Gleichungen 46 bis 49 liefert die in Tab. 26 zusammengestellten und in Abb. 41 und 42 graphisch dargestellten Werte. Der Eigen-pH des Puffersystems im Rattendünndarm ergibt sich zu 5,6; damit fällt der zu einem experimentellen pH von 6,6 gehörende effektive pH, 5,8 (Abb. 42), eindeutig in den Bereich der von Hogben et al. (1959) durch Equilibrierungsstudien erhaltenen Werte (5,3 - 6,1). Bemerkenswert ist auch, daß die beim Dünndarm angetroffene Pufferkapazität des Systems mit $\Delta pH / \Delta pH_{\text{eff}} = 4,2$ etwa 1,5mal größer ist als die bei der Mundschleimhaut.

Das Konzept eines puffernden Oberflächensystems steht im Widerspruch zu den Ansichten von Beckett u. Moffat (1969b), die behauptet haben, ein virtueller Oberflächen-pH existiere nicht, und der effektive pH an der Membranoberfläche sei durch den experimentellen pH im Lumen gegeben. Die Argumente dieser Autoren leiten sich aus Befunden ab, wonach die

Resorption von Amphetamin (pK_a 9,7) bei pH 7,7 derjenigen von p-n-Propylphenylelessigsäure (pK_a 4,36) bei pH 6,36 entspricht, wenn beide Substanzen zu 1 % unionisiert sind, und daß die Resorption von Methamphetamin (pK_a 10,0) bei pH 9,0 dieselbe ist wie die von p-Cyclopentylphenylelessigsäure (pK_a 4,36) bei pH 5,36, wenn beide Substanzen zu 10 % unionisiert sind. So weitreichende Schlußfolgerungen wie die der genannten Autoren lassen sich unserer Meinung nach aus diesen Daten aber nicht ziehen. Selbst wenn man unterstellt, daß die Substanzen die gleichen Verteilungseigenschaften haben, so daß die Resorption allein durch den Ionisationsgrad bestimmt würde, schließen die angeführten Resorptionsdaten die Existenz eines Puffersystems keineswegs aus. Sie legen lediglich die Vermutung nahe, daß der Eigen-pH eines solchen Systems nicht weit von 7,0 oder 7,2 (den arithmetischen Mitteln der pHs 7,7 und 6,36, bzw. 9,0 und 5,36) entfernt liegen sollte, und daß bei positiven oder negativen Verschiebungen des Test-pH der effektive pH symmetrisch, d.h. ohne Vorzugsrichtung folgen sollte. Dies wird durch unsere Ergebnisse bestätigt.

Crouthamel et al. (1971) bestreiten die Existenz des von Hogben et al. (1959) postulierten virtuellen pH. Sie deuten ihre Resorptionsbefunde vom Rattenmagen und -darm, indem sie einen partiellen Transfer von ionisierter Substanz durch wassergefüllte "Poren" in der Lipidmembran annehmen. Nach dieser Vorstellung soll die scheinbare Resorptionskonstante k_{app} eine lineare Funktion der unionisierten Fraktion f_u sein (Crouthamel et al., 1971, Gl. 3):

$$k_{app} = k_i + f_u \cdot (k_u - k_i) \quad .$$

(k_i und k_u bezeichnen hier die Resorptionskonstanten der ionisierten bzw. der unionisierten Form). Die entsprechenden Werte für Propranolol und p-n-Hexylphenylelessigsäure,

berechnet mit den Gl. 42 und 45, bzw. Gl. 37, und in Abb. 43 graphisch dargestellt, zeigen jedoch, daß in unserem Falle kein linearer Zusammenhang zwischen k_{app} und f_u besteht. Mithin reicht die Annahme von Poren nicht aus, die von der klassischen pH-Partitionstheorie abweichenden Befunde der bukkalen Resorption zu deuten. Auch die Tatsache, daß hydrophile Substanzen wie Atenolol nicht oder kaum resorbiert werden, und daß die bukkale Resorption bei hohem Ionisationsgrad generell gegen Null tendiert (z.B. Beckett u. Triggs, 1967; Beckett u. Moffat, 1968, 1969a), läßt erkennen, daß die Resorption durch Poren bei der bukkalen Resorption keine nennenswerte Rolle spielen kann.

Das bei der Mundschleimhaut angetroffene Puffersystem ist vereinbar mit der "wäßrigen Diffusionsschicht" von Suzuki et al. (1970). Das anatomische Äquivalent könnte in der apikalen Glycocalix des Mucosaepithels (dem "fuzzy coat" von Ito, 1969), oder in adhärierendem Mucin aus dem Speichel gesucht werden. In beiden Fällen würde eine Schicht von Mucopolysacchariden Wasser und Pufferionen in einem quasi-kristallinen Zustand an der Membranoberfläche gebunden halten.

Bisher war die Resorption für ein konstantes Zeitintervall von 5 Minuten durch einen mono-exponentiellen Term angenähert worden. Der Zeitverlauf der Resorption folgt aber einer komplizierteren Funktion.

In Multikompartimentalsystemen, in denen sich der Arzneistoff allein durch Diffusion zwischen den Kompartimenten verteilt, kann für jedes Kompartiment der Zeitverlauf des Arzneistoffgehaltes (der Dosis D) durch eine additiv zusammengesetzte Exponentialfunktion beschrieben werden:

$$D(t) = \sum_{i=1}^n X_i \cdot e^{-k_i t} \quad (\text{Gl. 50})$$

(Loo u. Riegelman, 1970). Kompartimentalsysteme können umgekehrt als Veranschaulichungen solcher additiver Exponentialfunktionen angesehen werden.

Unter den für den Zeitverlauf der bukkalen Resorption vorgeschlagenen Modellen erscheinen diejenigen von Dearden u. Tomlinson (1971) und Beckett u. Pickup (1975) von besonderem Interesse. Beide Modelle tragen dem nicht-mono-exponentiellen Zeitverlauf der bukkalen Resorption Rechnung, indem sie neben der Mundhöhle und dem Blutssystem ein drittes, zur Speicherung befähigtes Kompartiment vorsehen. In dem Modell von Dearden u. Tomlinson (1971) ist es allerdings nicht möglich, die speichernden Proteine zu lokalisieren: Sollten sie in der Testflüssigkeit gelöst sein, so würde der proteingebundene Arzneistoff am Endeder Kontaktzeit ausgespien und nicht als resorbiert zählen; wären sie aber membrangebunden, so läge genau der Fall des Modells von Beckett u. Pickup (1975) vor.

Dem Dreikompartimentalmodell von Beckett u. Pickup (1975, vgl. S. 11) liegt eine Bi-Exponentialfunktion der Form

$$D_A(t) = X_1 \cdot e^{-at} + X_2 \cdot e^{-bt} \quad (\text{Gl. 51})$$

zugrunde, aus deren vier Parametern X_1 , X_2 , a und b die Geschwindigkeitskonstanten k_1 , k_{-1} und k_2 nach Doluisio et al. (1970) folgendermaßen berechnet werden können:

$$k_1 = \frac{aX_1 + bX_2}{X_1 + X_2}, \quad (\text{Gl. 52})$$

$$k_2 = ab/k_1, \quad (\text{Gl. 53})$$

$$k_{-1} = a + b - k_1 - k_2 . \quad (\text{Gl. 54})$$

In einem Kurvenanpassungsverfahren wurde die Bi-Exponentialfunktion Gl. 51 an die empirische Zeit-Resorptionskurve von Propranolol angepaßt. Die enge Übereinstimmung zwischen theoretischer Kurve und experimentellen Daten (Abb. 44, Kurve A) bestätigt, daß das Dreikompartimentalmodell die bukkale Resorption zutreffend beschreibt. Die optimalen Parameterwerte sind $X_1 = 0,659$, $X_2 = 0,340$, $a = 0,0985 \text{ s}^{-1}$, $b = 0,0074 \text{ s}^{-1}$, die aus ihnen berechneten Geschwindigkeitskonstanten $k_1 = 0,068 \text{ s}^{-1}$, $k_{-1} = 0,028 \text{ s}^{-1}$, bzw. $k_2 = 0,011 \text{ s}^{-1}$.

Mit diesen Geschwindigkeitskonstanten ist es möglich, auch den Zeitverlauf des Arzneistoffgehaltes in der Membran quantitativ zu erfassen. In dem betrachteten Modell von Beckett u. Pickup (1975) gilt:

$$\frac{dD_A}{dt} = k_{-1} \cdot D_B - k_1 \cdot D_A , \quad (\text{Gl. 55})$$

daraus folgt nach Einsetzen von Gl. 51 sowie der ersten Ableitung von Gl. 51:

$$D_B(t) = \frac{k_1 - a}{k_{-1}} \cdot X_1 \cdot e^{-at} + \frac{k_1 - b}{k_{-1}} \cdot X_2 \cdot e^{-bt} . \quad (\text{Gl. 56})$$

Diese Funktion wurde als Kurve B in die Abb. 44 eingefügt.

Schließlich wurde in Abb. 44 noch der Zeitverlauf des Quotienten D_B/D_A dargestellt. Der Quotient steigt von Null bei $t = 0$ innerhalb von etwa 90 Sekunden auf 2,18 und bleibt bei diesem Wert bis zum Ende der Kontaktzeit. Da er definitionsgemäß das Verhältnis des Arzneistoffgehaltes in der Membran zu dem in der Mundhöhle beschreibt, zeigt er in der Plateauphase ein

Verteilungsgleichgewicht zwischen Membran und Mundhöhle an. Ähnlich einem Verteilungskoeffizienten ist er unabhängig von den absoluten Konzentrationen.

Von dem Plateauwert des Quotienten läßt sich ein Verteilungskoeffizient ableiten, indem man die Arzneistoffgehalte durch -konzentrationen ersetzt und den Ionisationsgrad in der wäßrigen Phase berücksichtigt:

$$P_u = \frac{c_1}{c_w f_u} = \frac{D_B}{D_A} \cdot \frac{Vol_A}{Vol_B} \cdot \frac{1}{f_u} \quad (Gl. 57)$$

Die innere Oberfläche der menschlichen Mundhöhle beträgt etwa 100 cm^2 (Ho u. Higuchi, 1971). Ihr Wangenanteil - ein Drittel - wird durch ein Epithel von durchschnittlich 0,5 mm, der Rest durch ein Epithel von 0,25 mm Dicke ausgekleidet (Landay u. Schroeder, 1977). Da bei vernachlässigbarer Konzentration hinter der Membran und linearer Verteilung der Konzentration innerhalb der Membran das effektive Verteilungsvolumen halb so groß ist wie das anatomische, ergibt sich als Schätzwert für Vol_B $1,66 \text{ cm}^3$. Für das Volumen in der Mundhöhle, Vol_A , wurde das Volumen der Testlösung (20 ml) eingesetzt. Dem experimentellen Puffer-pH 10,45 entsprach nach Abb. 39 ein effektiver pH an der Membranoberfläche von 8,0, bei dem die unionisierte Fraktion von Propranolol, f_u , 0,034 beträgt. Das Verhältnis der Konzentrationen an nicht dissoziierter Substanz in der Mundschleimhaut bzw. in der Testlösung in der Mundhöhle, gleichbedeutend mit einem in vivo-Verteilungskoeffizienten von Propranolol, berechnete sich mit diesen Werten zu $P_u = 774$.

Dieser hohe Wert überrascht nicht im Vergleich zu anderen Verteilungskoeffizienten von Propranolol in biologischen Systemen. Für das Erythrozyten/Plasma-System gaben Cotham u. Shand (1975) an, daß Propranolol sich zu 30 % in die

Erythrozyten verteile, und daß von der im Blutplasma befindlichen Substanzmenge 94 % proteingebunden sei. McDevitt et al. (1976) berichteten von 6,8 % freiem Propranolol im Plasma Gesunder. Ausgehend von einem Durchschnittswert von 6,4 % freiem Propranolol im Plasma, einem Plasma-pH von 7,4 und einem Erythrozyten/Plasma-Volumenverhältnis von 55/45 berechnet sich der P_u von Propranolol in diesem Verteilungssystem zu 926.

Das Verteilungsverhalten der beiden Modellsubstanzen Propranolol und Atenolol erlaubt es nicht, eine definitive Antwort auf die Frage zu geben, welches das geeignete Modelllipid für die menschliche Mundschleimhaut sei. Lediglich zwei Kriterien können abgeleitet werden. In seiner unionisierten Form wird Propranolol leicht in die Mundschleimhaut aufgenommen, während das bei Atenolol nicht der Fall ist. Das Modelllipid sollte diesen Sachverhalt in einer großen Differenz der (Logarithmen der) Verteilungskoeffizienten widerspiegeln. Außerdem sollte der Verteilungskoeffizient von Propranolol in dem Modelllipid wie im biologischen Material mindestens 20 - 30mal größer als in n-Heptan sein.

Als gemeinsames Maß der lipophilen Eigenschaften von biologischen Lipiden und organischen Lösemitteln kann die Dielektrizitätskonstante ϵ angesehen werden. Betrachtet man die Verteilungskoeffizienten von Propranolol und Atenolol in einer Reihe von organischen Lösemitteln mit unterschiedlichen lipophilen Eigenschaften (Abb. 29), so zeigt sich, daß beide obengenannten Kriterien zusammen weder bei den extrem apolaren noch bei den extrem polaren Lösungsmitteln erfüllt werden. Die bislang vorgeschlagenen Modelllipide n-Heptan (Beckett u. Moffat, 1969b; $\epsilon = 1,92$) und Isobutanol (Vora et al., 1972; $\epsilon = 17,7$) gehören aber in die Extrembereiche. Günstiger erscheinen die Kriterien im mittleren Polaritätsbereich ($\epsilon = 3-4$) erfüllt, so daß Lösemittel wie Divinyläther ($\epsilon = 3,94$), Diisopropyläther ($\epsilon = 3,88$), Diphenyläther

($\epsilon = 3,65$), Dibenzylamin ($\epsilon = 3,60$), Äthyloleat ($\epsilon = 3,17$) oder Äthylpalmitat ($\epsilon = 3,20$; Weast, 1972) unserer Meinung nach weitere Erforschung verdienen.

Die Ergebnisse der vorangehenden Diskussion können in einem physikalischen Modell für die Mundschleimhaut zusammengefaßt werden. Dieses schließt gegenüber dem klassischen Modell der nicht-ionischen Diffusion ein "Puffersystem" an der Membranoberfläche sowie "Membranspeicherung" ein (vgl. Abb. 45):

Drei in Serie liegende Kompartimente sind bei der bukkalen Resorption beteiligt. Das erste Kompartiment, die Mundhöhle (A in Abb. 45), umfaßt das Testvolumen und die wäßrige Oberflächenschicht der Membran. Während die Gesamtkonzentration des Arzneistoffes im Kompartiment A als überall gleichgroß angesehen wird, verändert sich der Anteil der unionisierten Spezies innerhalb der Pufferschicht entsprechend dem dort vorherrschenden pH. Der effektive pH an der Membranoberfläche hängt ab von der Dicke der Schicht, der Diffusionsgeschwindigkeit von Ionen aus der Testflüssigkeit, der Kontaktzeit, und möglicherweise auch von einer H^+ -Ionensekretion aus der Schleimhaut, die von Hogben et al. (1959) für die Dünndarmschleimhaut postuliert wurde, für die Mundschleimhaut aber nicht nachgewiesen ist.

Die Konzentration des unionisierten Anteils des Arzneistoffes bei -0 steht im Pseudo-Steady-State der Resorption in einem Verteilungsgleichgewicht mit der Konzentration an der Oberfläche der Lipidmembran (bei $+0$); dieses wird durch einen in vivo-Verteilungskoeffizienten beschrieben. Die Lipidmembran, Kompartiment B, wird in dem Modell homogen, von mittlerer Polarität (mit einer Dielektrizitätskonstanten ϵ im Bereich 3 bis 4), und frei von Poren vorgestellt. Kompartiment C, die Blutzirkulation, verhält sich wie ein Abfluß

("Sink"); sein Verteilungsvolumen ist so groß gegenüber der resorbierten Arzneistoffmenge, daß die effektive Konzentration für alle praktischen Zwecke gleich Null gedacht wird, und keine Rückdiffusion in die Membran stattfindet. Eine Nullkonzentration bei L bedeutet aber, daß im Pseudo-Steady-State der Resorption mit linearer Abnahme der Konzentration innerhalb der Membran das effektive Verteilungsvolumen halb so groß ist wie das verfügbare anatomische Volumen.

In diesem Modell sind die wesentlichen Parameter experimentell zugänglich. So erlaubt es der bukkale Resorptionstest, quantitative Werte für die Parameter Eigen-pH ($pH_{intr.}$), Pufferkapazität ($\Delta pH / \Delta pH_{eff}$) und in vivo-Verteilungskoeffizient eines Arzneistoffes (P_u), sowie angenähert auch für die Dielektrizitätskonstante (ϵ) als eines physikalischen Maßes der lipophilen Eigenschaften der Membran anzugeben. Die Annahmen, die zur Herleitung der Parameterwerte nötig waren, sind explizit dargestellt.

Allerdings wurde die Quantifizierbarkeit der Parameter durch einen Widerspruch zwischen zwei Grundannahmen erkauft. Zur Herleitung des Puffersystems wurde von einer ideal dünnen, keinen Arzneistoff speichernden Membran ausgegangen, während der wirkliche Zeitverlauf der Resorption Membranspeicherung nachweist. Dieser Widerspruch bringt mit sich, daß es offen bleiben muß, ob das Phänomen der beobachteten scheinbaren pH-Abhängigkeit der wahren Resorptionskonstanten k (Abb. 38) ausschließlich der Wirkung des Puffersystems zugeschrieben werden kann, oder ob es möglicherweise auch durch die Membranspeicherung mitverursacht worden ist. Eine Unterscheidung wird nur durch weitere experimentelle Arbeit möglich sein.

4.3. Diskussion des Modellwerts der bukkalen Resorption

Zur Ermittlung des Voraussagewerts der bukkalen Resorption sollten Befunde der Resorption durch die Mundschleimhaut mit Befunden von Permeationsvorgängen derselben Arzneistoffe an anderen biologischen Membranen verglichen werden. Die untersuchten Membransysteme waren die Blut-Liquor-Schranke, die Speicheldrüse und die Magendarmwand des Menschen. Die Objektstudien an diesen Membranen wurden von anderen Mitarbeitern gleichzeitig begonnen, keine wurde aber bis zum jetzigen Zeitpunkt (März 1978) abgeschlossen. Die hier wiedergegebenen Zwischenergebnisse verdanke ich Herrn Professor P. Turner, London, und Herrn Professor J.-P. Tillement, Créteil; sie haben den Charakter von persönlichen Mitteilungen.

Blut-Liquor-Schranke

Entsprechend den gegenwärtigen Vorstellungen (s. den Übersichtsartikel von Davson, 1976) muß man den Hirn-Liquor-Raum als ein in pharmakokinetischer Hinsicht einheitliches Ganzes ansehen. Extracellularwasser des Gehirns und Liquor cerebrospinalis stehen in freiem Flüssigkeitsaustausch, das Ventrikelepndym stellt keine Diffusionsbarriere für Arzneistoffe dar. Allerdings übt der Durchfluß der Cerebrospinalflüssigkeit durch das Ventrikelsystem von seiner Bildung in den Plexus chorioidei bis zu seiner Rückresorption in den Granulationes arachnoidales eine gewisse Spülfunktion aus, die vor allem bei langsam ins Extracellularwasser des Gehirns eindringenden Substanzen in Erscheinung tritt und zusätzlich dazu beiträgt, die Konzentrationen niedrig zu halten. Die Begrenzung des Hirn-Liquor-Raumes besteht zwar aus zwei anatomisch wohlunterschiedenen Anteilen, der

Blut-Hirn- und der Blut-Liquor-Schranke, diese stellen aber funktionell eine einheitliche, kontinuierliche Barriere dar.

Der freie Austausch von Liquor und Extracellularwasser des Gehirns erlaubt es, von den Konzentrationen eines Arzneistoffes im Liquor auf die Wirkkonzentrationen an den neuronalen Rezeptoren zu schließen. Für Arzneistoffe mit potentiellen zentralnervösen Wirkungen wäre es daher wünschenswert, die Liquorkonzentrationen zu kennen - oder sie wenigstens indirekt durch ein Modell abschätzen zu können.

Für den Vergleich der Blut-Liquor-Schranke mit der Mundschleimhaut wird davon ausgegangen, daß bei beiden Membransystemen pH-Gradienten und Proteinbindung berücksichtigt werden müssen. Der mittlere pH-Wert des menschlichen Liquors beträgt 7,35, seine mittlere Proteinkonzentration 25 mg/100 ml (Documenta Geigy, 1975, S. 631 u. S. 633); die entsprechenden Werte für das Blutplasma sind pH 7,40 und $\sim 7,2$ g/100 ml. Die hohe Permeationsfähigkeit von Propranolol durch die Mundschleimhaut legt folgende Vermutung nahe: Sollte die Permeationsgeschwindigkeit von Propranolol durch die Blut-Liquor-Schranke sehr groß sein im Vergleich zur Geschwindigkeit von Konzentrationsveränderungen im Plasma (wie sie durch gastrointestinale Resorption oder Verstoffwechselung in der Leber verursacht werden), und groß auch gegenüber der Eliminationsgeschwindigkeit aus dem Liquorraum durch die "Spülfunktion" der sezernierten Cerebrospinalflüssigkeit (Davson, 1976), dann würde sich in sehr kurzer Zeit ein Gleichgewicht zwischen Plasma- und Liquorraum einstellen können, in dem die Konzentrationen des nicht ionisierten und nicht proteingebundenen Arzneistoffanteils in beiden Flüssigkeiten dieselben sind. Das unter Idealbedingungen allzeitiger vollständiger Equilibrierung zu erwartende Konzentrationsverhältnis

$c_{\text{liquor}}/c_{\text{plasma}}$ kann zu 0,07 berechnet werden⁵⁾; es stellt einen Maximalwert dar.

Für 13 Patienten liegen gleichzeitig bestimmte Plasma- und Liquorkonzentrationen von Propranolol vor. Über einen Konzentrationsbereich 39 - 309 ng/ml der Plasmakonzentrationen variierte das jeweilige Konzentrationsverhältnis $c_{\text{liquor}}/c_{\text{plasma}}$ zwischen 0,02 und 0,08 mit einem Mittelwert von 0,05 (Prof. Turner). Über einen weiten Bereich der Plasmakonzentrationen befinden sich die Liquorkonzentrationen damit in der Nähe des vorausgesagten idealen Wertes; die Abweichung des errechneten Quotienten vom empirischen kann auf eine nicht ganz vollständige Equilibrierung, und wohl auch auf Schwankungen bei der Messung der sehr niedrigen Liquorkonzentrationen zurückgeführt werden. Damit findet sich die Vermutung bestätigt, daß die Permeationsfähigkeit von Propranolol durch die Blut-Liquor-Schranke sehr groß ist, d.h. von etwa derselben Größenordnung wie durch die Mundschleimhaut.

Atenolol wird unter allen experimentellen Bedingungen praktisch nicht durch die Mundschleimhaut resorbiert. Für seine Permeation in den Liquor läßt sich daher voraussagen, daß es die Blut-Liquor-Schranke ebenfalls nicht überschreiten dürfte. In einem Fall war die Liquorkonzentration sicher

$$5) \quad \frac{c_{\text{liquor}}}{c_{\text{plasma}}} = \frac{f_{u,\text{plasma}} \cdot f_{f,\text{plasma}}}{f_{u,\text{liquor}} \cdot f_{f,\text{liquor}}}$$

Zur Berechnung von f_u bei pH 7,40 bzw. 7,35 diene Gl. 36. Die Proteinbindung im Plasma wurde mit 94 % angesetzt (Cotham u. Shand, 1975); dann beträgt die Proteinbindung im Liquor bei gleicher Bindungsdichte $94 \cdot 0,025 : 7,2 = 0,33$ %, bzw. $f_{f,\text{plasma}} = 6$ % und $f_{f,\text{liquor}} = 99,67$ %.

unter der Empfindlichkeitsgrenze der verwendeten fluoreszenzphotometrischen Bestimmungsmethode von Kaye (1974); andere Zahlen liegen noch nicht vor, da die übrigen bisher gewonnenen Liquorproben bis zur Einführung einer empfindlicheren Bestimmungsmethode aufbewahrt werden.

Hansson et al. (1975) zeigten, daß sich Atenolol autoradiographisch im Gehirn von Mäusen nicht nachweisen läßt, mithin die Blut-Hirn-Schranke nicht nennenswert zu durchdringen vermag.

Im Gegensatz dazu reichert sich radioaktiv markiertes Propranolol im Gehirn von Mäusen (Levy et al., 1976) und Ratten, Hunden und Affen (Hayes u. Cooper, 1971) an.

Anderson et al. (1977) injizierten Propranolol in die Seitenventrikel von Kaninchen und fanden, daß die Konzentrationen im Blutplasma nach zehn Minuten etwa 80 % der Konzentrationen betragen, die durch intravenöse Gabe derselben Dosen nach zehn Minuten erreicht worden waren. Dieses Ergebnis ist deshalb bemerkenswert, weil es die Geschwindigkeit hervorhebt, mit der sich der Konzentrationsausgleich zwischen Plasma, Liquor und den übrigen Körperkompartimenten vollzieht. Myers et al. (1975) fanden Propranololkonzentrationen im Hirngewebe von Kaninchen, die etwa das Fünfzehnfache der gleichzeitig bestimmten Plasmakonzentrationen betragen. Dieselben Autoren berichten von der Gehirnkonzentration eines verstorbenen Menschen, der über einen längeren Zeitraum Infusionen von Propranolol als Teil der Therapie einer Parquat-Vergiftung erhalten hatte; auch hier betrug die Gehirnkonzentration etwa das Fünfzehnfache der Plasmakonzentration.

Bei den β -Adrenolytika sollten neuro-psychiatrische Wirkungen nicht als Beweis für die Liquorgängigkeit ins Treffen geführt

werden. Bei dieser Klasse von Wirkstoffen sind die peripheren Wirkungen eng an das Zentralnervensystem zurückgekoppelt; z.B. wirkt das nicht liquorgängige Practolol anxiolytisch (Bonn et al., 1972), und manche der zentralnervösen Nebenwirkungen könnten auch durch eine gestörte periphere Kreislaufregulation erklärbar sein. Außerdem besteht die Gefahr, in Zirkelschlüssen zu denken und eine bestimmte Wirkung eines lipophilen Vertreters dieser Gruppe - wie z.B. Propranolol - vor allem deshalb als zentral verursacht zu deuten, weil man weiß, daß er die Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen vermag. Immerhin gibt es aber bei Propranolol einige neuro-psychiatrische Nebenwirkungen (wie Seh- und Schlafstörungen, Alpträume, Halluzinationen und psychotische Zustände), die sich kaum anders als durch einen zentralen Angriffspunkt erklären lassen. (Zu diesem Thema s. Carlsson et al., 1976, und dort insbesondere die Beiträge von Atsmon, Greenblatt et al., Lader und Turner.)

Soweit Konzentrationen gemessen wurden, stehen unsere Befunde im Einklang mit den in der Literatur berichteten Ergebnissen. Die Tatsache, daß es bei den Prüfsubstanzen Propranolol und Atenolol außerdem eine Parellelität zwischen bukkaler Resorption und Permeation in den Liquor gibt, weist darauf hin, daß die Resorption durch die Mundschleimhaut Voraussagen über die Permeation in den Liquor abzuleiten erlaubt - das Modell "bukkale Resorption" erweist sich als gültig.

Speicheldrüse

In den letzten Jahren ist der Sekretion von Arzneistoffen mit dem Speichel zunehmend Aufmerksamkeit gewidmet worden, weil man vermutete, daß die Speichelkonzentrationen ein quantitatives Maß für die gleichzeitig anzutreffenden Plasmakonzentrationen darstellen könnten. Dies wäre von großer klinisch-pharmakologischer Bedeutung, ließen sich doch die Einstellung und Überwachung von therapeutischen Blutspiegeln und die Bestimmung von individuellen pharmakokinetischen Größen (Bioverfügbarkeit, Halbwertszeiten) durch die Entnahme von Speichelproben einfacher gestalten und in vermehrtem Maße durchführen, als das bislang mit den herkömmlichen Blutentnahmen möglich ist.

Eine ausführliche Darstellung der physiologischen Vorgänge bei der Speichelsekretion geben Konturek u. Classen (1976, S. 65 - 100). Die von diesen Autoren zusammengestellten Ergebnisse sollen hier nur insoweit zitiert werden, als sie für die Sezernierung von Arzneistoffen mit dem Speichel bedeutsam sein könnten.

Für klinisch-pharmakologische Untersuchungen steht im allgemeinen sogenannter "gemischter Speichel" zur Verfügung. Die Anteile aus den verschiedenen Sekretionstypen unterscheiden sich in ihrem Gehalt an organischen Substanzen, wie Proteinen und Mucopolysacchariden, weniger dagegen in ihrem Elektrolytgehalt. Unter Ruhebedingungen stammen 69 % des Gesamtspeichels aus der (paarigen) sero-mucösen Glandula submandibularis, 26 % aus der serösen Glandula parotis und 5 % aus der mucösen Glandula sublingualis; der Anteil der kleinen Speicheldrüsen blieb in dieser Studie unberücksichtigt. Mit steigender Flußrate nimmt der Anteil der Glandula parotis - auf Kosten der anderen Drüsen - bis auf 34 % der Gesamtsekretion zu.

Der Sekretionsvorgang des serösen Speichels geht nach neueren Vorstellungen in zwei Schritten vor sich: Zunächst bilden die Acinus-Epithelzellen durch aktiven Transport von Natriumionen ins Drüsenlumen - gefolgt von Wasser, Chlorid-, Kalium-, Bikarbonat- und anderen anorganischen Ionen - den sogenannten "Primärspeichel". Obgleich der Primärspeichel in seiner Osmolalität und in seinen Ionenkonzentrationen weitgehend dem Blutplasma entspricht, stellt er kein Ultrafiltrat des Blutplasmas dar: Kleinmolekulare Plasmabestandteile außer den sezernierten Ionen sind in ihm nicht enthalten.

Auf dem Weg durch das Gangsystem verändert der Speichel seine Zusammensetzung. Die "sekundäre Transformation" schließt die Rückresorption von Natrium- und Chloridionen bei fehlender Rückresorption von Wasser ein; mit abnehmenden Natrium- und Chloridionenkonzentrationen sinkt der osmotische Druck des Speichels. Die Kaliumionenkonzentration nimmt längs des Weges zu, wahrscheinlich durch einen Austauschmechanismus von Kalium- gegen Natriumionen. Außerdem sind die Epithelzellen des ausführenden Gangsystems in der Lage, aktiv Bikarbonationen zu sezernieren.

Dem gegenüberzustellen sind die Auswirkungen einer nervalen oder pharmakologischen Stimulation des Speichelflusses auf die Zusammensetzung des Sekretionsproduktes. Der Einfluß der cholinergen Stimulation läßt sich in drei Einzelwirkungen aufgliedern:

1. Primärspeichel wird mit erhöhter Sekretionsgeschwindigkeit gebildet, seine Zusammensetzung bleibt aber im wesentlichen unverändert.
2. Das Epithel des Gangsystems resorbiert in vermindertem Ausmaß Natrium- und Chloridionen zurück. Dadurch steigen die Natrium- und Chloridionenkonzentration sowie die

Osmolalität des sezernierten Speichels auf Werte aus dem Bereich des Primärspeichels an.

3. Das Drüsengängepithel sondert in vermehrtem Maße Bikarbonationen ab. Die Bikarbonatkonzentration kann so bei hohen Flußgeschwindigkeiten mehr als das Doppelte der Plasmakonzentration betragen.

Der pH-Wert des sezernierten Speichels ist eng mit seinem Bikarbonatgehalt verknüpft. Beim Menschen nimmt er von pH 5,8 bei annähernd sistierender Sekretion bis zu pH 7,8 bei einer Flußrate von 2 ml/min zu (Dawes u. Jenkins, 1964). Einen geringen Einfluß auf den Speichel-pH haben auch Phosphationen, gelöstes Kohlendioxid und die sauren Mucopolysaccharide der Schleimanteile. Nach Documenta Geigy (1975, S. 639) hat Parotisspeichel im Mittel einen pH-Wert von 5,7, Submandibularispeichel einen solchen von 6,4; für den gemischten Speichel von Erwachsenen wird ebenfalls ein pH-Wert von 6,4 angegeben.

Entsprechend der Zweistufentheorie der Sekretion ist der in den Drüsenacini gebildete Primärspeichel zunächst frei von Arzneistoffen, wie auch von den übrigen organischen Bestandteilen des Blutplasmas. (Lediglich Lithiumionen mögen hier eine Ausnahme bilden.). Da Acinus- und Ausführungsepithel der Speicheldrüse eine kontinuierliche zelluläre Begrenzung des Lumens bilden, wird angenommen, daß der Transfer von kleinmolekularen Plasmabestandteilen und Arzneistoffen in den Speichel als passive Diffusion durch die Epithelmembran erfolgt. Dabei ist denkbar, daß unter günstigen Diffusionsbedingungen die Konzentrationen von Plasma und Speichel sich schon auf Höhe der Drüsenacini ausgleichen - daß der in den Acini gewonnene Speichel bezüglich seines Arzneistoffgehaltes schon keinen Primärspeichel mehr darstellt.

Für die Deutung der Sezernierung der Prüfsubstanzen Propranolol und Atenolol in den Speichel kann nach den bei Konturek u. Classen (1976) zusammengestellten Erkenntnissen grundsätzlich die Theorie der nicht-ionischen Diffusion zugrunde gelegt werden. Es soll im folgenden die Hypothese geprüft werden, daß die empirisch gefundenen Speichelkonzentrationen von Propranolol tatsächlich den Konzentrationen entsprechen, die für einen Speichel-pH im Bereich von 5,7 bis 6,4 nach der Theorie der nicht-ionischen Diffusion zu erwarten gewesen wäre. Dazu wird analog zur Situation bei der Blut-Liquor-Schranke für Propranolol das zu erwartende Speichel/Plasma-Konzentrationsverhältnis für die willkürlich gewählten, doch sinnvoll erscheinenden Speichel-pH-Werte 5,7, 6,25 und 6,4 berechnet. Implizit vorausgesetzt wird bei dieser Art des Vorgehens eine vollständige Equilibrierung; es wird angenommen, daß Propranolol das Speicheldrüsenepithel "sehr schnell" durchdringt, etwa mit einer Geschwindigkeitskonstanten von der Größenordnung der Resorptionskonstanten durch die Mundschleimhaut.

Zur Frage der Proteinbindung: Im allgemeinen wird in der Literatur davon ausgegangen, daß die Proteinbindung im Speichel wegen des geringen Proteingehaltes (Gesamt-Stickstoff = 60 mg/100 ml, Documenta Geigy, 1975, S. 641) vernachlässigbar ist. Dies wurde speziell für Propranolol auch nachgewiesen (Mucklow et al., im Druck). Die Autoren gaben mit "3 %" einen Wert an, der im Bereich der Meßgenauigkeit des von ihnen verwandten Dialysierverfahrens lag. Die zu erwartenden Konzentrationsverhältnisse $c_{\text{speichel}}/c_{\text{plasma}}$ können nun für die oben angegebenen Speichel-

pH-Werte berechnet werden⁶⁾. Bei einem Speichel-pH von 5,7 beträgt die zu erwartende Speichelkonzentration von Propranolol das 2,98fache der gleichzeitig vorliegenden Plasmakonzentration, bei einem Speichel-pH 6,25 noch das 0,84fache, bei einem Speichel-pH 6,4 noch das 0,60fache.

Bei 43 Patienten wurden im Department of Clinical Pharmacology, St. Bartholomew's Hospital London, gleichzeitig die Propranolol-Konzentrationen im Blutplasma und im unstimulierten Speichel gemessen. Zwischen den beiden Konzentrationen fand sich - in logarithmischer Auftragung - eine positive Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,841$. Die Steigung der Regressionsgeraden, die das empirische Maß für das Konzentrationsverhältnis $c_{\text{speichel}}/c_{\text{plasma}}$ darstellt, betrug 0,86 (Prof. Turner). Das empirische Konzentrationsverhältnis liegt somit im theoretisch vorausgesagten Bereich. Mit ziemlicher Genauigkeit entsprechen die gemessenen Speichelkonzentrationen einem pH-Wert im Speichel von 6,25, der etwas niedriger ist als der für den Gesamtspeichel von Erwachsenen angegebene Wert (pH 6,4), aber zwischen den für Parotis- und Submandibularspeichel fraktioniert gemessenen Werten liegt. Die Übereinstimmung von theoretischem und empirischem Konzentrationsverhältnis rechtfertigt die Voraussetzung vollständiger Equilibrierung und bestätigt die Vermutung, daß Propranolol das Speicheldrüsenepithel ähnlich leicht und schnell wie die Mundschleimhaut durchdringt.

$$6) \quad \frac{c_{\text{speichel}}}{c_{\text{plasma}}} = \frac{f_{u,\text{plasma}} \cdot f_{f,\text{plasma}}}{f_{u,\text{speichel}} \cdot f_{f,\text{speichel}}}$$

Zur Berechnung von f_u Gl. 36. Die Proteinbindung im Plasma beträgt 94 % (Cotham u. Shand, 1975), im Speichel ist sie vernachlässigbar (Mucklow et al., im Druck); damit ist $f_{f,\text{plasma}} = 6 \%$, $f_{f,\text{speichel}} = 100 \%$.

Für Atenolol läßt sich von seiner bukkalen Resorption voraussagen, daß es das Speicheldrüsenepithel wahrscheinlich ebenfalls nicht zu durchdringen in der Lage sein wird. Die bisher gemessenen Speichelkonzentrationen lagen unter der Sensitivitätsgrenze der verwendeten fluoreszenzphotometrischen Bestimmungsmethode von Kaye (1974); weitere Proben werden bis zur Einführung einer empfindlicheren Bestimmungsmethode aufbewahrt (Prof. Turner).

Mucklow et al. (im Druck) fanden im Gegensatz zu unseren Ergebnissen keine positive Korrelation zwischen den Plasma- und Speichelkonzentrationen von Propranolol. Bei einer Reihe von Arzneistoffen ist dagegen beobachtet worden, daß sich die freie und nicht ionisierte Form der Substanz vollständig oder annähernd vollständig zwischen Speichel und Plasma equilibriert. Dies wurde berichtet von Digoxin (Huffmann, 1975), Carbamazepin (Westenberg et al., 1978), Phenytoin (Mucklow et al., im Druck), Theophyllin (Koysooko et al., 1974), Antipyrin (Vesell et al., 1975), Paracetamol (Eckard et al., 1978), sowie Diazepam und Äthanol (Peller u. le Petit, 1977). Andere Arzneistoffe können ähnlich wie Atenolol aufgrund ihrer wenig lipophilen Eigenschaften das Speicheldrüsenepithel nicht überqueren, so z.B. Benzylpenicillin (Bender et al., 1953) bzw. Phenoxymethylpenicillin, Ampicillin, Cloxacillin und Cephalexin (Speirs et al., 1971). Lithiumionen werden aktiv sezerniert; sie erreichen im Speichel mehr als das Doppelte der Plasmakonzentrationen (Groth et al., 1974; Neu et al., 1975).

Die meisten der vorliegenden Untersuchungen stimmen darin überein, daß die Konzentrationen von Arzneistoffen im Speichel in Übereinstimmung mit der Theorie der nichtionischen Diffusion vom Grad der Proteinbindung im Plasma, vom pH-Wert des Speichels und von den lipophilen Eigenschaften

der Substanz abhängen. Die Sekretionsgeschwindigkeit dürfte einen Einfluß nicht nur über den bei verschiedenen Flußraten variierenden pH-Wert des Speichels ausüben; bei unterschiedlichen Flußgeschwindigkeiten ändert sich auch die effektive Equilibrierungszeit - die Zeit, die dem Speichel innerhalb der Drüse zur Equilibrierung zur Verfügung steht - und damit möglicherweise der Grad des Konzentrationsausgleichs.

Wegen der Vielzahl der Faktoren, die einen Einfluß auf die Arzneistoffkonzentrationen im Speichel ausüben können, erscheint es angezeigt, die Entnahme von Speichelproben zu standardisieren. Dies könnte dadurch geschehen, daß nur unstimulierter Speichel gewonnen wird, und daß für jeden Probanden durch mehrmaliges gleichzeitiges Bestimmen von Plasma- und Speichelkonzentrationen das individuell gültige Konzentrationsverhältnis $c_{\text{speichel}}/c_{\text{plasma}}$ als ein Umrechnungsfaktor der Speichel- in die Plasmakonzentrationen ermittelt wird (Vorschlag von Neu et al., 1975; implizit enthalten auch bei Eckard et al., 1978). Unter diesen Voraussetzungen dürften die Speichelkonzentrationen aber tatsächlich ein wertvolles indirektes Maß für die Plasmakonzentrationen darstellen.

Nach den Befunden von den Modellsubstanzen Propranolol und Atenolol erlaubt es der bukkale Resorptionstest, Voraussagen über die zu erwartenden Konzentrationsverhältnisse zwischen Plasma und Speichel abzuleiten; - die Resorption durch die Mundschleimhaut bewies ihren Modellcharakter auch für die Sezernierung von Arzneistoffen in den Speichel.

Magendarmwand

Der Einfluß der oberflächenaktiven Substanz Polysorbat 80 auf die gastrointestinale Resorption von Digoxin sollte mit demjenigen auf die bukkale Resorption verglichen werden. Polysorbat 80 ist ein nichtionogenes Detergens, das in manchen kommerziellen Tablettenzubereitungen von Digoxin enthalten ist und dazu beitragen soll, eine gleichmäßige und hohe Resorption von Digoxin zu gewährleisten. Neben der gewünschten Beschleunigung des Zerfalls der Tabletten durch eine verbesserte Benetzbarkeit des hydrophoben Wirkstoffes können Detergentien zwei weitere für die Resorption bedeutsame Wirkungen ausüben.

Im Konzentrationsbereich oberhalb der sog. kritischen micellaren Konzentration lagern sich Detergentienmoleküle untereinander zu Micellen an, kleinen Tröpfchen mit hydrophiler Außen- und lipophiler Innenseite, in deren Inneres lipophile Arzneistoffmoleküle aufgenommen werden können. Dadurch steigt auf der einen Seite zwar die Gesamtwasserlöslichkeit von lipophilen Substanzen, auf der anderen Seite sinkt aber für eine gegebene Gesamtkonzentration (z.B. wenn eine Tablette schon vollständig aufgelöst ist,) die Konzentration in der wäßrigen Phase: Entsprechend einem Verteilungsgleichgewicht häuft sich Substanz im Innern der Micellen an. Da nur molekular dispersierter Arzneistoff, nicht aber Micellen durch die Schleimhäute resorbiert werden können, sinkt mit der effektiven Konzentration in der wäßrigen Phase auch die Geschwindigkeit der Resorption (Übersichtsartikel von Gibaldi u. Feldman, 1970).

Ferner wurde beobachtet, daß manche oberflächenaktiven Substanzen mit der Schleimhaut selbst interagieren und einen sog. reversibel hyperresorptiven Zustand erzeugen können.

Als Ursache der gesteigerten Resorption wird eine Störung der Struktur der Elementarmembranen vermutet, da der resorptionsfördernde Effekt der Detergentien mit ihrem hämolytischen Potential korreliert ist (Davis et al., 1970).

Um die Frage zu klären, ob derartige Wirkungen auch bei der gastrointestinalen Resorption von Digoxin beim Menschen nachweisbar sind, wurde im Département de Pharmacologie de Crêteil an sechs Probanden im Alter von 21 - 29 Jahren ein gekreuzter Doppelblindversuch unternommen. Die Probanden erhielten morgens nüchtern 0,5 mg Digoxin in 150 ml Wasser gelöst, einmal ohne Polysorbat und einmal mit Polysorbat in einer Konzentration von 0,13 mg/ml. Zehn Blutproben wurden im Verlaufe von zwölf Stunden entnommen und die Zeitkurve der Plasmakonzentrationen bestimmt. Die Fläche unter der Kurve diente als Maß für die Bioverfügbarkeit. In dieser Studie wurde unter dem Einfluß von Polysorbat 80 bei drei Probanden die Bioverfügbarkeit von Digoxin annähernd verdoppelt, während sie bei den drei anderen nur unwesentlich verändert wurde. (Die Werte für die Fläche unter der Kurve ohne und mit Polysorbat waren: 10,1 - 19,2; 25,7 - 29,8; 26,1 - 49,6; 25,0 - 46,1; 79,3 - 78,3; 31,0 - 28,4 cm²). Das Ergebnis deutet auf eine Förderung der Resorption im Sinne des hyperresorptiven Zustandes, der, abhängig von individuell variablen Faktoren wie Dicke und Qualität der protektiven Schleimschicht, bei verschiedenen Individuen verschieden stark in Erscheinung treten kann (Prof. Tillement).

Die bukkale Resorption von Digoxin wurde durch keine der benutzten Polysorbatkonzentrationen gegenüber einer polysorbatfreien Testlösung signifikant verändert. Als Tendenz läßt sich aber in Abb. 37 ablesen, daß mit steigender

Polysorbatkonzentration die Resorption von Digoxin zunächst ebenfalls ansteigt - was mit einem schon bei geringen Detergentien-Konzentrationen wirksam werdenden hyperresorptiven Zustand (Davis et al., 1970) vereinbar ist. Hohe Konzentrationen schwächen den Effekt dann wieder ab. Da dies auch bei Propranolol, einer ebenfalls lipophilen Substanz, der Fall ist, läßt sich die Abnahme der Resorption von Digoxin am ehesten durch eine Umverteilung des Arzneistoffes in die nun verstärkt gebildeten Micellen deuten. Der resorptionsfördernde Effekt von Polysorbat wird dieser Interpretation zufolge bei steigender Konzentration durch die resorptionshemmende Wirkung der Micellen scheinbar wieder aufgehoben.

In allen drei Situationen, in denen das Modell "Resorption durch die Mundschleimhaut" mit pharmakologisch bedeutsamen Resorptionsvorgängen verglichen wurde, ergab sich eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen Modell und Objekt; die "Gültigkeit" des Modells für die Objektsituationen konnte grundsätzlich aufgezeigt werden. Es erscheint demnach möglich, von der bukkalen Resorption qualitative Aussagen über die zu erwartende Liquorgängigkeit eines neuen Arzneistoffes zu machen, und auch die Penetrationsfähigkeit in den Speichel kann abgeschätzt werden.

Allerdings sind die Voraussagen, die von der bukkalen Resorption abgeleitet werden können, eben nur qualitativer Natur; sie reflektieren vor allen den Einfluß des lipophilen Charakters und des Ionisationsgrades einer Substanz entsprechend der Theorie der nicht-ionischen Diffusion. In ihrem Aussagewert unterscheiden sie sich kaum von den (qualitativen) Voraussagen, die von den physikochemischen Parametern Verteilungskoeffizient und Dissoziationskonstante allein abgeleitet werden könnten. Da der bukkale Resorptionstest aber aufwendiger ist als die in vitro-Experimente zur Bestimmung der physikochemischen Konstanten, erscheint er als Test zur Vorhersage der Liquor- und Speichelgängigkeit neuer Arzneistoffe insgesamt weniger geeignet.

Der eigentliche Wert des bukkalen Resorptionstestes liegt vermutlich auf einem anderen Gebiet - das puffernde Oberflächensystem, der in vivo-Verteilungskoeffizient und der resorptionsfördernde Effekt der oberflächenaktiven Substanz Polysorbat 80 deuten es an: In der menschlichen Mundschleimhaut haben wir eine lebendige und dem Experiment leicht zugängliche biologische Membran vor uns, an der sich durch den bukkalen Resorptionstest Eigenschaften aufdecken lassen, die für andere biologische Membransysteme Modellbedeutung erlangen könnten.

5. Zusammenfassung

1. Der Modellwert des bukkalen Resorptionstests für den passiven Arzneitransfer durch biologische Membranen sollte am Beispiel dreier Transfervorgänge bestimmt werden: der Permeation von Propranolol und Atenolol in den Liquor cerebrospinalis, der Sezernierung von Propranolol und Atenolol mit dem Speichel und der gastrointestinalen Resorption von Digoxin unter dem Einfluß von Polysorbat 80.
2. Die physikochemischen Eigenschaften der Modellarzneistoffe Propranolol und Atenolol wurden in vitro bestimmt. Die Substanzen sind Basen mit vergleichbarer Dissoziationskonstante (K_a), unterscheiden sich aber in ihren Öl-Wasser-Verteilungskoeffizienten (P_u) und den Wasserlöslichkeiten der freien Base (S_o): Propranolol ist stark lipophil und wenig wasserlöslich, Atenolol ist schwach lipophil und gut wasserlöslich.
3. Die bukkale Resorption von Propranolol und Atenolol wurde unter Bedingungen variabler Substanzkonzentration, variabler Wasserstoffionenkonzentration und variabler Kontaktzeit in vivo in vielen Experimenten an einem Probanden untersucht. Ebenso wurde die bukkale Resorption von Digoxin unter Bedingungen variabler Polysorbat-80-Konzentrationen untersucht. Die Resorptionsversuche wurden durch Phenolrot als nichtresorbierbaren internen Marker kontrolliert, der auch eine Abschätzung der Störfaktoren Speichelfluß und Schlucken ermöglichte. Ein Kontrollversuch mit fünfzehn Probanden (pH-Abhängigkeit der Resorption) zeigte, daß sorgfältig durchgeführte Ein-Proband-Studien in pharmakokinetischen Fragestellungen nicht weniger aufschlußreich sein können als Mehr-Probanden-Studien.

4. Ein Vergleich der physikochemischen Eigenschaften mit den in vivo-Resorptionsdaten für Propranolol und Atenolol bestätigte grundsätzlich die Gültigkeit der klassischen Theorie der nicht-ionischen Diffusion. Darüberhinaus ließ sich eine quantitative Deutung der Resorptionsdaten auf der Basis eines neuen, modifizierten Membranmodells erzielen, das für die menschliche Mundschleimhaut eine "pH-puffernde, wäßrige Oberflächenschicht" sowie "Membranspeicherung" vorsieht. Im Zuge der Ableitung dieses Modells wurden Methoden beschrieben und durch Daten aus der Literatur validisiert, nach denen ohne Verletzung der Mundschleimhaut Eigen-pH und Pufferkapazität des postulierten Oberflächensystems aus Verteilungskoeffizienten und pH-Resorptions-Daten von geeigneten Substanzen, sowie in vivo-Verteilungskoeffizienten aus Zeit-Resorptions-Kurven angenähert bestimmt werden können.
5. Der Modellwert der bukkalen Resorption in den fraglichen Situationen konnte aufgezeigt werden. Zwischen dem Transfer von Propranolol und Atenolol in den Liquor und Speichel einerseits, sowie ihrer bukkalen Resorption andererseits besteht eine qualitative Übereinstimmung. Davon verallgemeinernd, erscheinen Voraussagen von der bukkalen Resorption eines Stoffes auf seine Liquor- und Speichelgängigkeit möglich. Auch für den resorptionsfördernden Effekt von Polysorbat 80 auf die gastrointestinale Resorption von Digoxin gibt es Parallelen bei der bukkalen Resorption.
6. Die Voraussagen vom Modell "bukkale Resorption" über den wahrscheinlichen Transfer durch andere Lipidmembranen sind qualitativer Natur; sie sind den von den physikochemischen Parametern ableitbaren Voraussagen nicht grundsätzlich überlegen. Bukkale Resorptionsversuche werden aber möglicherweise exemplarisch dazu beitragen können, Eigenschaften biologischer und pharmakologischer Membranen aufzuklären.

6. Literaturverzeichnis

1. ANDERSON, W.P., KORNER, P.I., BOBIK, A. u. CHALMERS, J.P. (1977). Leakage of dl-propranolol from cerebrospinal fluid to the bloodstream in the rabbit.
J. Pharmacol. exp. Ther., 202, 320 - 325.
2. ANKIER, S.I. u. KAYE, C.M. (1976). Influence of pH on the buccal absorption and renal excretion of disopyramide in man.
Brit. J. clin. Pharmacol., 3, 672 - 673.
3. ARBAB, A.G. (1972). Pharmacological studies of thymoxamine in man.
M.A.-Thesis, Universität London.
4. BECKETT, A.H., BOYES, R.N. u. TRIGGS, E.J. (1968). Kinetics of buccal absorption of amphetamines.
J. Pharm. Pharmacol., 20, 92 - 97.
5. BECKETT, A.H. u. MOFFAT, A.C. (1968). The influence of alkyl substitution in acids on their performance in the buccal absorption test.
J. Pharm. Pharmacol., 20, Suppl., 239S - 247S.
6. BECKETT, A.H. u. MOFFAT, A.C. (1969a). The influence of substitution in phenylacetic acids on their performance in the buccal absorption test.
J. Pharm. Pharmacol., 21, Suppl., 139S - 143S.
7. BECKETT, A.H. u. MOFFAT, A.C. (1969b). Correlation of partition coefficients in n-heptane-aqueous systems with buccal absorption data for a series of amines and acids.
J. Pharm. Pharmacol., 21, Suppl., 144S - 150S.
8. BECKETT, A.H. u. MOFFAT, A.C. (1971). The buccal absorption of some barbiturates.
J. Pharm. Pharmacol., 23, 15 - 18.
9. BECKETT, A.H. u. PICKUP, N.E. (1975). A model for steroid transport across biological membranes.
J. Pharm. Pharmacol., 27, 226 - 234.

10. BECKETT, A.H. u. TRIGGS, E.J. (1967). Buccal absorption of basic drugs and its application as an in vivo model of passive drug transfer through lipid membranes.
J. Pharm. Pharmacol., 19, Suppl., 31S - 41S.
11. BENDER, I.B., PRESSMAN, R.S. u. TASHMAN, S.G. (1953). Studies on excretion of antibiotics in human saliva.
J. Am. dent. Ass., 46, 164 - 170.
12. BICKEL, M.H. u. WEDER, H.J. (1969). Buccal absorption and other properties of pharmacokinetic importance of imipramine and its metabolites.
J. Pharm. Pharmacol., 21, 160 - 168.
13. Biomathematik für Mediziner (1975). Hrsg. Kollegium Biomathematik NW. 1. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
14. BONN, J.A., TURNER, P. u. HICKS, D. (1972). Beta-adrenergic receptor blockade with practolol in treatment of anxiety.
Lancet 1 (1972), 814.
15. BRODIE, B.B. (1964). Physico-chemical factors in drug absorption.
In: Absorption and Distribution of Drugs, Hrsg. Binns, T.B., S. 16 - 48. Edinburgh: Livingstone.
16. BRODIE, B.B. u. HOGBEN, C.A.M. (1957). Some physico-chemical factors in drug action.
J. Pharm. Pharmacol., 2, 345 - 380.
17. CARLSSON, C., ENGEL, J. u. HANSSON, L. (1976). Neuro-Psychiatric Effects of Adrenergic Beta-Receptor Blocking Agents.
1. Aufl., München, Berlin, Wien: Urban u. Schwarzenberg.
18. CHIOU, W.L. u. ONYEMELUKWE, I. (1973). Possible errors and role of mercuric chloride in using Trinder's reagent for assay of salicylate in urine specimens.
J. pharm. Sci., 62, 1742 - 1743.
19. COTHAN, R. u. SHAND, D. (1975). Spurious low plasma propranolol concentrations resulting from blood collection methods.
Clin. Pharmacol. Ther., 18, 535 - 538.

20. CROUTHAMEL, W.G., TAN, G.H., DITTERT, L.W. u. DOLUISIO, J.T. (1971). Drug absorption IV: Influence of pH on absorption kinetics of weakly acidic drugs.
J. pharm. Sci., 60, 1160 - 1163.
21. DAVIS, W.W., PFEIFFER, R.R. u. QUAY, J.B. (1970). Normal and promoted gastrointestinal absorption of water-soluble substances I: Induced rapidly reversible hyperabsorptive state in the canine fundic stomach pouch.
J. pharm. Sci., 59, 960 - 963.
22. DAVSON, H. (1976). The blood-brain barrier.
J. Physiol. (Lond.), 255, 1 - 28.
23. DAWES, C. u. JENKINS, G.N. (1964). The effects of different stimuli on the composition of saliva in man.
J. Physiol. (Lond.), 170, 86 - 100.
24. DEARDEN, J.C. u. TOMLINSON, E. (1971). A new buccal absorption model.
J. Pharm. Pharmacol., 23, Suppl., 68S - 72S.
25. Documenta Geigy (1975). Wissenschaftliche Tabellen. 7. Ausg., Stuttgart: Thieme.
26. DOLUISIO, J.T., CROUTHAMEL, W.G., TAN, G.H., SWINTOSKY, J.V. u. DITTERT, L.W. (1970). Drug absorption III: Effect of membrane storage on the kinetics of drug absorption.
J. pharm. Sci., 59, 72 - 76.
27. ECKARD, R., ENING, R. u. ENING, W. (1978). Mass fragmentographic study of the time course of different drugs with respect to the plasma-salivary distribution coefficient in man.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 302, Suppl., R14.
28. FELLER, K. u. LE PETIT, G. (1977). On the distribution of drugs in saliva and blood plasma.
Int. J. clin. Pharmacol., 15, 468 - 469.
29. GARNHAM, J.C., KAYE, C.M., KASPI, T. u. OH, V.M.S. (1977). The different effects of sodium bicarbonate and aluminium hydroxide on the absorption of indomethacin in man.
Postgr. med. J., 53, 126 - 129.

30. GIBALDI, M. u. FELDMAN, S. (1970). Mechanisms of surfactant effects on drug absorption. *J. pharm. Sci.*, 59, 579 - 589.
31. GROTH, U., PRELLWITZ, W. u. JÄHNCHEN, F. (1974). Estimation of pharmacokinetic parameters of lithium from saliva and urine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 16, 490 - 498.
32. GUPTA, V.D. u. REED, J.B. (1970). First pKa values of some acid-base indicators. *J. pharm. Sci.*, 59, 1683 - 1685.
33. HANSSON, L., ABERG, H., KARLBERG, B.E. u. WESTERLUND, A. (1975). Controlled study of atenolol in treatment of hypertension. *Brit. med. J.*, 91, 367 - 370.
34. HARRISON, R.D. (1972). Book of data. 1. Aufl., Harmondsworth; Penguin.
35. HAYES, A. u. COOPER, R.G. (1971). Studies on the absorption, distribution and excretion of propranolol in rat, dog and monkey. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 176, 302 - 311.
36. HICKS, D.C. (1973). The buccal absorption of some β -adrenoceptor blocking agents. *Brit. J. Pharmacol.*, 47, 680P - 681P.
37. HO, N.F.H. u. HIGUCHI, W.I. (1971). Quantitative interpretation of in vivo buccal absorption of n-alkanoic acids by the physical model approach. *J. pharm. Sci.*, 60, 537 - 541.
38. HOGBEN, C.A.M., TOCCO, D.J., BRODIE, B.B. u. SCHANKER, L.S. (1959). On the mechanism of intestinal absorption of drugs. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 125, 275 - 282.
39. HUFFMAN, D. (1975). Relationship between digoxin concentration in serum and saliva. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 17, 310 - 312.
40. ITO, S. (1969). Structure and function of the glycolyx. *Fed. Proc.*, 28, 12 - 25.
41. KAYE, C.M. (1974). A simple spectrophotofluorometric method for the measurement of ICI 66082 (atenolol) in plasma and urine. *Brit. J. clin. Pharmacol.*, 1, 84 - 86.

42. KAYE, C.M. u. LONG, A.D. (1976). The influence of pH on the buccal absorption and plasma and renal elimination of acebutolol.
Brit. J. clin. Pharmacol., 2, 196 - 197.
43. KHALIL, S.A. u. MARTIN, A.N. (1967). Drug transport through model membranes and its correlation with solubility parameters.
J. pharm. Sci., 56, 1225 - 1233.
44. KIDDIE, M.A. u. KAYE, C.M. (1976). The influence of pH on the buccal absorption, and renal and plasma elimination of mexiletine and lignocaine.
Brit. J. clin. Pharmacol., 3, 350P - 351P.
45. KONTUREK, S.J. u. CLASSEN, M. (1976). Gastrointestinale Physiologie. 1. Aufl., Baden-Baden, Brüssel, Köln: Witzstrock.
46. KOYSOOKO, R., ELLIS, E.F. u. LEVY, G. (1974). Relationship between theophylline concentration in plasma and saliva of man.
Clin. Pharmacol. Ther., 15, 454 - 460.
47. LANDAY, M.A. u. SCHROEDER, H.E. (1977). Quantitative electron microscopic analysis of the stratified epithelium of the normal human buccal mucosa.
Cell Tiss. Res., 177, 383 - 407.
48. LANDOLT-BÖRNSTEIN (1959). Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik. II. Bd., 6. Teil; Hrsg. Hellwege, K.H. u. Hellwege, A.M.; Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer.
49. LEHNINGER, A.L. (1975). Biochemistry. 2. Aufl., New York: Worth.
50. LEVY, A., NGAI, S.H., FINCK, A.D., KAWASHIMA, K. u. SPECTOR, S. (1976). Disposition of propranolol isomers in mice.
Europ. J. Pharmacol., 40, 93 - 100.
51. LIPPOLD, B.C. u. SCHNEIDER, G.F. (1976). Untersuchungen zur Resorption von Benzilsäureestern homologer Dimethyl-(2-hydroxyäthyl)-alkylammoniumbromide durch die Mundschleimhaut.
Arzneimittel-Forsch., 26, 2202 - 2205.

52. LOO, J.C.K. u. RIEGELMAN, S. (1970). Assessment of pharmacokinetic constants from postinfusion blood curves obtained after i.v. infusion. *J. pharm. Sci.*, 59, 53 - 55.
53. MANNING, A.S. u. EVERED, D.F. (1976). The absorption of sugars from the human buccal cavity. *Clin. Sci. mol. Med.*, 51, 127 - 132.
54. MARTIN, A.N., SWARBRICK, J. u. CAMMARATA, A. (1975). *Physikalische Pharmazie*. Stuttgart: Wiss. Verlagsgesellschaft.
55. MCDEVITT, D.G., FRISK-HOLMBERG, M., HOLLIFIELD, J.W. u. SHAND, D.G. (1976). Plasma binding and affinity of propranolol for β -receptor in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 20, 152 - 157.
56. Merck Index (1968). 8. Aufl. Rahway: Merck.
57. MEYER, W., KAYE, C.M. u. TURNER, P. (1974). Influence of pH on the buccal absorption and renal excretion of procainamide. *Europ. J. clin. Pharmacol.*, 7, 287 - 289.
58. MUCKLOW, J.C., BENDING, M.R., KAHN, G.C. u. DOLLERY, C.T. (im Druck; Juni 1978). Drug concentration in human saliva. *Clin. Pharmacol. Ther.*
59. MYERS, M.G., LEWIS, P.I., REID, I.L. u. DOLLERY, C.T. (1975). Brain concentration of propranolol in relation to hypertensive effect in the rabbit with observations on brain propranolol levels in man. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 192, 327 - 335.
60. NEU, C., DINASCIO, A. u. WILLIAMS, D. (1975). Saliva lithium levels: clinical applications. *Amer. J. Psychiat.*, 132, 66 - 68.
61. SALTZMAN, A. (1948). Fluorophotometric method for the estimation of salicylates in blood. *J. biol. Chem.*, 174, 399 - 402.
62. SCALES, B. u. COPSEY, P.B. (1975). The gaschromatographic determination of atenolol in biological samples. *J. Pharm. Pharmacol.*, 27, 430 - 433.

63. SCHANKER, L.S., SHORE, P.A., BRODIE, B.B. u. HOGGEN, C.A.M. (1957). Absorption of drugs from the stomach I: the rat.
J. Pharmacol. exp. Ther., 120, 528 - 539.
64. SHAND, D.G., NUCKOLLS, E.M. u. OATES, J.A. (1970). Plasma propranolol levels in adults with observations in four children.
Clin. Pharmacol. Ther., 11, 112 - 120.
65. SMITH, S.E. u. RAWLINS, M.D. (1973). Variability in Human Drug Response.
1. Aufl., London: Butterworths.
66. SPEIRS, C.F., STENHOUSE, D., STEPHEN, K.W. u. WALLACE, E.T. (1971). Comparison of human serum, parotid and mixed saliva levels of phenoxymethyl penicillin, ampicillin, cloxacillin and cephalixin.
Brit. J. Pharmacol., 43, 242 - 247.
67. SUZUKI, A., HIGUCHI, W.I. u. HO, N.F.H. (1970). Theoretical model studies of drug absorption and transport in the gastrointestinal tract.
J. pharm. Sci., 59, 644 - 651.
68. TRINDER, P. (1954). Rapid determination of salicylate in biological fluids.
Biochem. J., 57, 301 - 303.
69. VESELL, E.S., PASSANTI, G.T., GLENWRIGHT, P.A. u. DVORCHIK, B.H. (1975). Studies on the disposition of antipyrine, aminopyrine, and phenacetin using plasma, saliva, and urine.
Clin. Pharmacol. Ther., 18, 259 - 272.
70. VORA, K.R.M., HIGUCHI, W.I. u. HO, N.F.H. (1972). Analysis of human buccal absorption of drugs by physical model approach.
J. pharm. Sci., 61, 1785 - 1791.
71. WEAST, R.C. (1972). Handbook of Chemistry and Physics.
53. Aufl. Cleveland: The Chemical Rubber Co.
72. WEAST, R.C., SELBY, S.M. u. HODGMAN, C.D. (1965). Handbook of Chemistry and Physics. 46. Aufl. Cleveland: The Chemical Rubber Co.
73. WESTENBERG, H.G.M., DEZEEUW, R.A., KLEIJN, E. u. OET, T.T. (1978). Relationship between carbamazepine concentrations in plasma and saliva in man as determined by liquid chromatography.
Clin. Pharmacol. Ther., 23, 320 - 328.

7. Danksagung

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle Herrn Professor Paul Turner, B.Sc., M.D., F.R.C.P. meinen herzlichen Dank auszusprechen. Er stellte Thema und Laborplatz zur Verfügung und begleitete den Fortgang der Arbeit durch ständige Unterstützung und Beratung. Seiner Einladung verdanke ich die Möglichkeit zum Studium in London.

Mein aufrichtiger Dank gilt auch Herrn Professor Dr. med. Klaus Opitz, von dem der Vorschlag stammt, Phenolrot als internen Marker bei den Resorptionsversuchen zu verwenden, und der dem Manuskript dieser Arbeit zu seiner letzten Form verhalf.

8. Lebenslauf

Am 14. Mai 1953 wurde ich als ältestes von sechs Kindern des Apothekers Heinrich Schürmann und seiner Ehefrau Dr. Elfriede Schürmann, geb. Suchowsky, in Warstein, Kreis Soest, geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Belecke, danach das Neusprachliche Gymnasium in Warstein, wo ich 1972 das Abitur ablegte.

Das Medizinstudium begann ich in Würzburg im Wintersemester 1972/73. Nach der Ärztlichen Vorprüfung wechselte ich 1974 nach Münster.

1976/77 war ich für zwei Semester Gaststudent am St. Bartholomew's Hospital in London und arbeitete während dieser Zeit im Department of Clinical Pharmacology bei Professor Paul Turner.

Nach Münster zurückgekehrt, legte ich im August 1978 den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab. Seither absolviere ich hier das Praktische Jahr.

Anhang:

Tabellen und Abbildungen

	Chinin- Sulfat	d1-Propranolol- Hydrochlorid	Atenolol- Base
Molekulargewicht	782,96	295,81	640,40
Konzentration	1 µg/ml	0,2 µg/ml	20 µg/ml
Fluoreszenz	h3: 40	h10: 18,8	h1: 13,4
Relative molare Fluoreszenzkapazität	100	27	4,1

Tab. 1:

Relative molare Fluoreszenzkapazität von Propranolol und Atenolol bezogen auf Chinin.

	Propranolol- Hydrochlorid	Atenolol- Base	Chinin- Sulfat
Anfangskonzentration	1 µg/ml	20 µg/ml	4 µg/ml
Fluoreszenz	h10: 95,7	h1: 13,4	h3: 160
Fluoreszenz nach der Extraktion	h10: 73,9	h10: 55,5	h1: 39,4
Extraktionseffizienz	93 %	50 %	89 %

Tab. 2:

Effizienz der gewählten Extraktionsmethode für Propranolol, Atenolol und Chinin. (Der Volumenverlust von 1/6 wurde berücksichtigt).

	Phenolrot	Salicylsäure
Anfangskonzentration	10 µg/ml	100 µg/ml
Extinktion	1,100	1,063
Extinktion nach der Extraktion	0,000	0,002
Extraktionseffizienz	0,0 %	0,02 %

Tab. 3:

Effizienz der Extraktionsmethode für die Säuren Phenolrot und Salicylsäure.

Konzentration Polysorbat 80	Fluoreszenz		
	Propranolol	Atenolol	Chinin
0 µg/ml	h3: 85,0	h10: 92,3	m10: 34,2
	85,8	91,5	33,0
	85,8	90,5	32,6
	83,2	91,0	34,3
100 µg/ml	h3: 88,3	h10: 98,2	m10: 33,2
	84,0	88,2	33,3
	87,5	91,8	33,7
	83,5	86,2	33,5
10 000 µg/ml	h3: 86,0	h10: 98,8	m10: 33,1
	85,5	90,2	34,9
	87,3	94,7	32,8
	86,0	90,3	33,9

Tab. 4:

Einfluß von Polysorbat 80 auf die Extraktion von Propranolol, Atenolol und Chinin. Die Ablesungen von 5 µg/ml Propranolol-Hydrochlorid, 50 µg/ml Atenolol und 5 µg/ml Chinin-Sulfat - extrahiert aus Phosphatpuffer pH 7,0 - wurden durch einen ansteigenden Polysorbatgehalt nicht signifikant beeinflusst. ($n = 4$; U-Test von Mann-Whitney-Wilcoxon mit $\alpha = 0,05$, Biomathematik für Mediziner, 1975, S. 165).

Propranolol-
Hydrochlorid

Atenolol

Phenolrot

$\mu\text{g/ml}$	Extinktion	$\mu\text{g/ml}$	Extinktion	$\mu\text{g/ml}$	Extinktion
0	(0,000)	0	(0,000)	0	(0,000)
4	0,005	20	0,003	2	0,013
8	0,004	40	0,004	4	0,031
12	0,002	60	0,002	6	0,050
16	0,004	80	0,000	8	0,068
20	0,004	100	0,001	10	0,084

Tab. 5:

Einfluß von Propranolol, Atenolol und Phenolrot auf die Extinktion von Trinder-Reagenz bei 560 nm. Zu 3 ml Trinder-Reagenz wurde 1 ml Substratlösung der angegebenen Konzentration pipettiert und die Extinktion bei 560 nm gegen den Leerwert (Anfangswert) abgelesen.

Zeit	pH
10 Sekunden	9,30
20 "	9,31
40 "	9,31
1 Minute	9,31
2 Minuten	9,30
3 "	9,30
4 "	9,29
5 "	9,29
10 "	8,97
15 "	8,84
20 "	8,73
30 "	8,69
40 "	8,65
14 Stunden	8,58

Tab. 6:

Zeitabhängige Veränderlichkeit des pH-Werts einer alkalisierten Propranolollösung. Zu 5 ml 0,01 M Propranolol wurden 2,5 ml 0,01 N NaOH pipettiert; sofort trat eine homogene (milchige) Trübung auf, die sich zwischen 5 und 10 Minuten in eine kristalloide Ausflockung verwandelte.

Konzentration	Osmolalität
mM	mosm
0	4
17	45
33	83
67	158
83	191
100	222
117	261
133	287
167	352
200	405

Tab. 7:

Osmolalität von Sörensen-Phosphatpuffer pH 7,4 in Abhängigkeit von der Konzentration. Die Konzentration 0,14 M ist plasmaisoton (300 mosm).

Geschlecht		Alter (J)	Datum der Teilnahme an der pH-Abhängigkeitsstudie (1977)			Raucher
GH	m	33	23.2.	9.3.		nein
VO	m	32	23.2.	25.2.	9.3.	nein
RE	w	25	3.3.	10.3.		nein
MK	m	28	25.2.	10.3.		ja
AH	w	32	7.3.	16.3.		nein
PG	m	33	21.2.	7.3.		nein
AM	w	25	24.2.	8.3.		nein
AJ	w	20	1.3.	8.3.		nein
SH	m	26	19.2.	3.3.		ja
TW	w	26	4.3.	16.3.		ja
VK	m	34	21.2.	4.3.		nein
SB	w	25	19.2.	1.3.		nein
LT	w	23	24.2.			nein
GW	w	27	28.2.			nein
JM	w	21	28.2.			nein

Tab. 8:

Liste der Teilnehmer an der pH-Abhängigkeitsstudie.

Tag Reihenfolge der Kontaktzeiten (Sekunden)

1	10	45	120	300
2	20	60	90	180
3	30	60	120	300
4	20	45	90	180
5	10	30	90	300
6	10	30	60	180
7	20	45	120	300
8	10	30	60	120
9	20	45	90	180

Tab. 9:

Schema der Reihenfolge der Kontaktzeiten in aufeinanderfolgenden Versuchen in der Zeitabhängigkeitsstudie.

Propranolol- HCl 0,01 M (ml)	0,01 N NaOH (ml)	S (mg/ml)	pH _{lim}	T (°C)	S ₀ (mg/ml)
2,0	0,80	2,14	7,93	24	0,063
2,0	0,80	2,14	8,00	24	0,073
2,0	0,75	2,18	7,95	24	0,067
2,0	0,75	2,18	7,99	24	0,073
2,0	0,75	2,18	7,96	24	0,068
Mittelwert					0,07

Wasser (ml)	Atenolol (mg)	S (mg/ml)	pH _{lim}	T (°C)	S ₀ (mg/ml)
2,0	19,9	9,95	10,68	25	9,19
2,0	22,0	11,0	10,55	24	9,89
Mittelwert					9,5

Tab. 10:

Wasserlöslichkeit von Propranolol (oben) und Atenolol (unten) bei 24° C. Zu einer Propranolol-Lösung wurde NaOH gegeben bis Ausfällung sichtbar wurde; Atenolol wurde in Wasser gelöst bis Sättigung erreicht war. Die Löslichkeit der unionisierten Form der Arzneistoffe (S₀) wurde aus der Endkonzentration (S) und dem pH der Lösung (pH_{lim}) entsprechend Gl. 12 berechnet.

pH	Wasserlöslichkeit (mg/ml)	
	Propranolol	Atenolol
4	2×10^4	$3,7 \times 10^6$
6	2×10^2	$3,7 \times 10^4$
8	2,0	387
10	0,089	13
12	0,070	9,5

Tab. 11:

(Gesamt-)Wasserlöslichkeiten (S) von Propranolol-Hydrochlorid und Atenolol-Base bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen. Theoretisch erwartete Löslichkeiten entsprechend Gl. 13.

organisches Lösemittel		P_u (Propranolol)			Mittelwert
n-Heptan	30,70	28,99	-	-	29,85
Benzol	310,3	414,0	238,4	275,7	309,6
Toluol	203,1	199,8	140,5	135,8	169,8
Diäthyläther	269,7	388,1	238,4	263,9	290,0
Chloroform	690,7	698,4	956,7	1382	932,0
Amylalkohol	400,6	443,6	354,7	365,2	391,0
Octanol-(2)	86,7	97,8	154,6	104,5	110,9
Äthylacetat	2,66	3,61	2,77	2,89	2,98

Tab. 12:

Verteilungskoeffizienten (P_u) von Propranolol in acht organischen Lösungsmitteln und 0,1 N NaOH. Vierfachbestimmungen bei Raumtemperatur (24° C).

organisches Lösemittel	P_u (Atenolol)		Mittelwert
n-Heptan	0,075	0,031	0,05
Benzol	0,028	0,000	0,01
Toluol	0,007	(neg.)	0,007
Diäthyläther	0,010	(neg.)	0,01
Chloroform	0,745	0,741	0,74
Amylalkohol	3,235	3,333	3,28
Octanol-(2)	0,887	0,987	0,94
Äthylacetat	0,840	0,863	0,85

Tab. 13:

Verteilungskoeffizienten (P_u) von Atenolol in acht organischen Lösemitteln und 0,1 N NaOH. Doppelbestimmungen bei Raumtemperatur (24° C).

organisches Lösemittel	P_u (Chinin)		Mittelwert
n-Heptan	0,303	0,297	0,30
Octanol-(2)	468	245	357

Tab. 14:

Verteilungskoeffizienten (P_u) von Chinin in n-Heptan bzw. Octanol-(2) und 0,1 N NaOH. Doppelbestimmungen bei Raumtemperatur (24° C).

organisches Lösemittel	P_u (Salicylsäure)		Mittelwert
n-Heptan	0,101	0,098	0,10
Octanol-(2)	213	218	216

Tab. 15:

Verteilungskoeffizienten (P_u) von Salicylsäure in n-Heptan bzw. Octanol und 0,1 N HCl. Doppelbestimmungen bei Raumtemperatur (24° C).

organisches Lösemittel	Dielektrizitäts- konstante ϵ_r	T (°C)	Quelle
n-Heptan	1,92	20	1)
Benzol	2,28	20	2)
Toluol	2,38	25	2)
Diäthyläther	4,34	20	2)
Chloroform	4,81	20	2)
Amylalkohol	5,82	25	2), 3)
Octanol-(2)	7,70	25	4)
Äthylacetat	6,02	25	2)

Tab. 16:

Dielektrizitätskonstanten der organischen Lösemittel. Angaben aus der Literatur: 1) Harrison, 1972, S. 89; 2) Weast, 1965, S. E49; 3) Wert von 2-Methylbutan-1-ol. 4) Landolt-Börnstein, 1959, Bd. II/6, S. 721, Abb. 138.

pH	$V_{sk} \text{ (ml)}$	$V_{sal} \text{ (ml)}$
5	$2,60 \pm 1,46$	$8,30 \pm 4,41$
6	$1,58 \pm 0,39$	$4,80 \pm 1,27$
7	$0,73 \pm 0,43$	$3,33 \pm 0,39$
8	$0,08 \pm 0,10$	$2,65 \pm 0,39$
9	$0,38 \pm 0,51$	$3,10 \pm 0,91$
10	$0,40 \pm 0,24$	$2,40 \pm 0,39$

Tab. 17:

Schlucken und Speichelfluß in 5 min Kontaktzeit bei einem trainierten Probanden.

Mittelwerte und Standardabweichungen von vier Versuchen bei jedem der angegebenen pH-Werte.

pH	V_{sk} (ml)	V_{sal} (ml)
5	$3,13 \pm 1,53$	$9,63 \pm 4,55$
6	$2,83 \pm 1,31$	$7,50 \pm 2,40$
7	$1,30 \pm 0,89$	$4,45 \pm 2,88$
8	$0,40 \pm 0,42$	$5,07 \pm 2,02$
9	$0,45 \pm 0,34$	$4,78 \pm 0,70$
10	$1,93 \pm 1,56$	$3,25 \pm 1,19$

Tab. 18:

Schlucken und Speichelfluß in 5 min Kontaktzeit bei 15 untrainierten Probanden.

Mittelwerte und Standardabweichungen von vier Versuchen bei jedem der angegebenen pH-Werte.

Initialkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	n	% res (Mittelwert $\pm$ Standardabw.)
0,5	6	42,2 $\pm$ 4,28
1,0	3	41,4
2	3	39,5
4	3	43,8
10	6	42,6 $\pm$ 1,75
16	3	43,5

Tab. 19:

Konzentrationsabhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol
(n = 3 bzw. 6).

Initialkonzentration ($\mu\text{g/ml}$)	% res (Mittelwert)
10	2,3
20	3,0
40	1,5
80	1,3
320	0,5

Tab. 20:

Konzentrationsabhängigkeit der bukkalen Resorption von
Atenolol ($n = 2$).

pH _i	pH	% res	
		(Mittelwerte + Standardabweichungen)	
		Propranolol	Atenolol
5	5,08	3,15 + 5,99	-5,04 + 4,20
6	6,02	9,25 + 12,8	-3,89 + 5,02
7	7,00	25,99 + 5,37	-2,58 + 4,27
8	7,93	55,76 + 5,08	-2,25 + 2,90
9	8,94	76,86 + 3,73	3,06 + 3,40
10	9,93	89,06 + 1,16	-3,86 + 2,48

Tab. 21:

pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol, ein Proband (n = 4). pH_i = Wasserstoffionenkonzentration der Testlösung vor dem Test, pH = Wasserstoffionenkonzentration der Testlösung am Mittelpunkt des Kontaktzeitintervalls.

pH _i	pH	% res (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen)	
		Propranolol	Atenolol
5	5,10	-1,44 $\pm$ 7,28	-3,07 $\pm$ 8,31
6	6,03	7,19 $\pm$ 4,31	-3,52 $\pm$ 1,59
7	6,99	21,41 $\pm$ 8,14	0,16 $\pm$ 6,13
8	7,93	40,70 $\pm$ 17,93	-0,30 $\pm$ 1,53
9	8,93	63,57 $\pm$ 14,53	2,86 $\pm$ 3,09
10	9,93	70,96 $\pm$ 20,72	2,33 $\pm$ 2,18

Tab. 22:

pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol, 15 Probanden. (n = 4 bei jedem pH). pH_i = Wasserstoffionenkonzentration der Testlösung vor dem Test, pH = Wasserstoffionenkonzentration der Testlösung am Mittelpunkt des Kontaktzeitintervalls.

Kontaktzeit (Sekunden)	% nonres	
	(Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)	
	Propranolol	Atenolol
10	55,15 $\pm$ 12,04	101,58 $\pm$ 3,14
20	39,15 $\pm$ 5,83	102,05 $\pm$ 4,14
30	31,90 $\pm$ 7,89	98,75 $\pm$ 3,89
45	24,18 $\pm$ 6,45	102,43 $\pm$ 6,98
60	21,78 $\pm$ 7,19	99,75 $\pm$ 2,36
90	16,85 $\pm$ 0,73	105,23 $\pm$ 4,74
120	13,38 $\pm$ 3,04	98,28 $\pm$ 2,57
180	9,40 $\pm$ 0,75	106,43 $\pm$ 5,91
300	4,38 $\pm$ 2,40	99,53 $\pm$ 6,05

Tab. 23:

Zeitabhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol; gemessen wurde der nichtresorbierte Anteil der in der Testlösung enthaltenen Substanzmenge (% nonres).

Polysorbat- konzentration ($\mu\text{g/ml}$)	% res (Mittelwerte = Standardabweichungen)			
	Propranolol	Atenolol	Chinin	Salicylsäure Digoxin
0	48,22 $\pm$ 8,53	5,65 $\pm$ 3,23	27,47 $\pm$ 3,49	8,22 $\pm$ 4,59 44,06 $\pm$ 16,05
10	42,72 $\pm$ 3,35	6,17 $\pm$ 2,24	24,39 $\pm$ 2,21	10,22 $\pm$ 3,90 44,38 $\pm$ 6,50
100	54,14 $\pm$ 9,23	12,35 $\pm$ 3,78	24,31 $\pm$ 3,28	9,14 $\pm$ 1,56 59,69 $\pm$ 9,54
1000	55,02 $\pm$ 8,07	8,33 $\pm$ 5,15	26,55 $\pm$ 2,71	10,05 $\pm$ 4,16 46,56 $\pm$ 5,98
10000	38,55 $\pm$ 9,83	1,56 $\pm$ 4,16	18,65 $\pm$ 6,04	16,78 $\pm$ 6,37 32,19 $\pm$ 6,49

Tab. 24:

Einfluß von Polysorbat 80 auf die bukkale Resorption von fünf ausgewählten Arzneistoffen bei einem Probanden ($n = 4$).

pH	k (min ⁻¹)	pH _{eff}	f _u	k _{app} (min ⁻¹)
5,08	150,1	5,90	4,27 · 10 ⁻⁵	6,40 · 10 ⁻³
6,02	52,3	6,38	3,71 · 10 ⁻⁴	1,94 · 10 ⁻²
7,00	17,0	6,87	3,54 · 10 ⁻³	6,02 · 10 ⁻²
7,93	5,7	7,31	2,93 · 10 ⁻²	1,63 · 10 ⁻¹
8,94	1,2	7,56	2,36 · 10 ⁻¹	2,93 · 10 ⁻¹
9,93	0,6	7,74	7,51 · 10 ⁻¹	4,43 · 10 ⁻¹
4,0	0,5	6,17	6,96 · 10 ⁻¹	3,45 · 10 ⁻¹
5,0	1,6	6,25	1,86 · 10 ⁻¹	2,90 · 10 ⁻¹
6,0	8,4	6,44	2,24 · 10 ⁻²	1,89 · 10 ⁻¹
7,0	37,4	6,79	2,29 · 10 ⁻³	8,56 · 10 ⁻²
8,0	158,5	7,16	2,29 · 10 ⁻⁴	3,63 · 10 ⁻²
9,0	728,2	7,50	2,29 · 10 ⁻⁵	1,67 · 10 ⁻²

Tab. 25:

Berechnete Größen zur bukkalen Resorption von Propranolol (oben) und p-n-Hexylphenylelessigsäure (unten).

Berechnung der Werte für k, pH_{eff}, f_u und k_{app} mittels der im Text angegebenen Gl. 36, 37, 42 und 46 - 49 aus den Resorptionsdaten der Tab. 22 für Propranolol, bzw. aus den in Beckett u. Moffat, 1969a, Fig. 1A und 1969b angegebenen Daten für p-n-Hexylphenylelessigsäure.

pH	% res	k (min ⁻¹)	pH _{eff}
4	9	39,52	5,18
5	11	4,90	5,27
7	41	0,230	5,93
8	54	0,0455	6,09
4	64	0,187	5,19
5	35	0,725	5,56
7	30	59,50	5,64
8	10	175,4	6,18

Tab. 26:

Berechnete Größen zur Resorption von Chinin (oben) und Salicylsäure (unten) nach Daten von Brodie (1964: pH, % res).

Fluoreszenz



Abb. 1:

Excitationsspektrum von Propranolol allein.

(2,5 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid in 0,01 N HCl; Emission bei 360 nm).



Abb. 2:

Excitationsspektrum von Atenolol allein.

(50 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol in 0,01 N HCl; Emission bei 305 nm).

Fluoreszenz

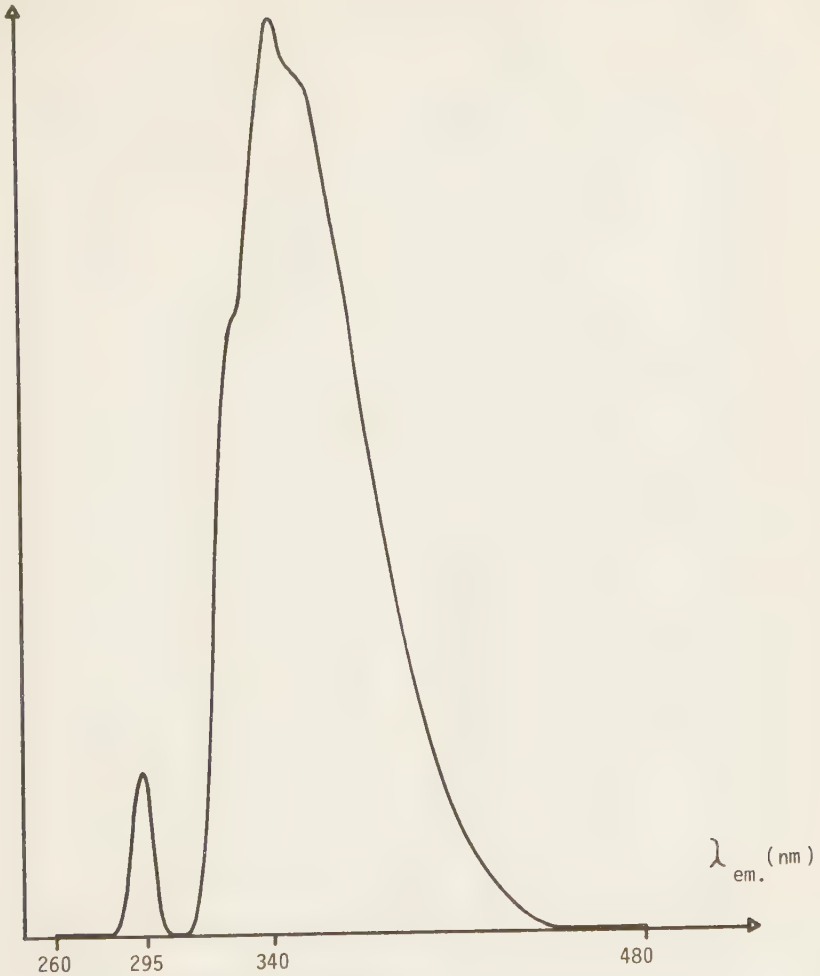


Abb. 3:

Emissionsspektrum von Propranolol allein.

(2,5 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid in 0,01 N HCl; Excitation bei 295 nm).

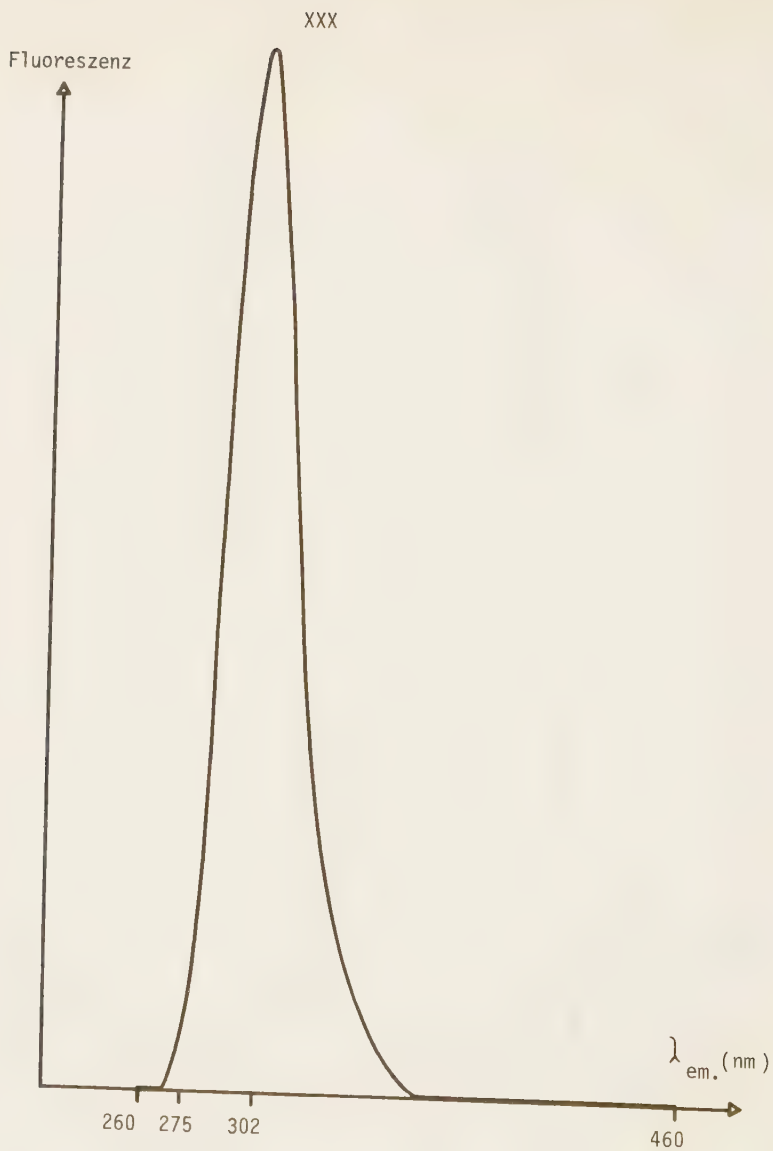


Abb. 4:

Emissionsspektrum von Atenolol allein.

(50 $\mu g/ml$ Atenolol in 0,01 N HCl; Excitation bei 275 nm).



Abb. 5:

Excitationsspektrum von Propranolol in gemischter Arzneistofflösung. (2,5 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid und 50 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol in 0,01 N HCl; Emission bei 360 nm).

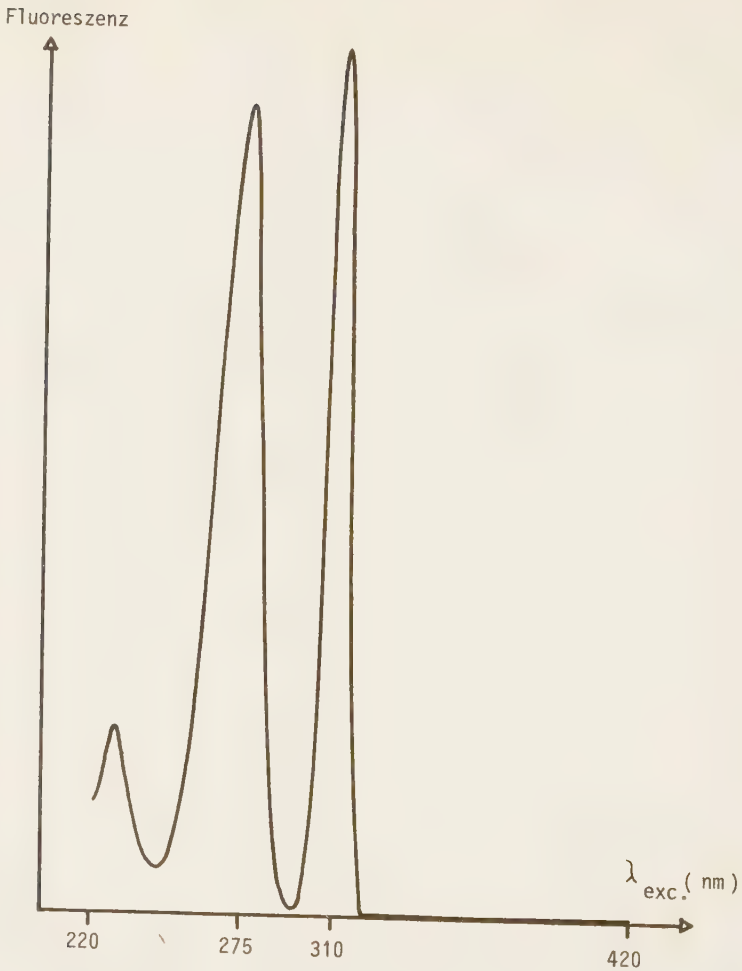


Abb. 6:

Excitationsspektrum von Atenolol in gemischter Arzneistoff-
Lösung. (2,5 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid und 50 $\mu\text{g/ml}$
Atenolol in 0,01 N HCl; Emission bei 310 nm).

Fluoreszenz



Abb. 7:

Emissionsspektrum von Propranolol in gemischter Arzneistofflösung.
(2,5 $\mu\text{g/ml}$ Propranolol-Hydrochlorid und 50 $\mu\text{g/ml}$ Atenolol in
0,01 N HCl; Excitation bei 295 nm).

Fluoreszenz

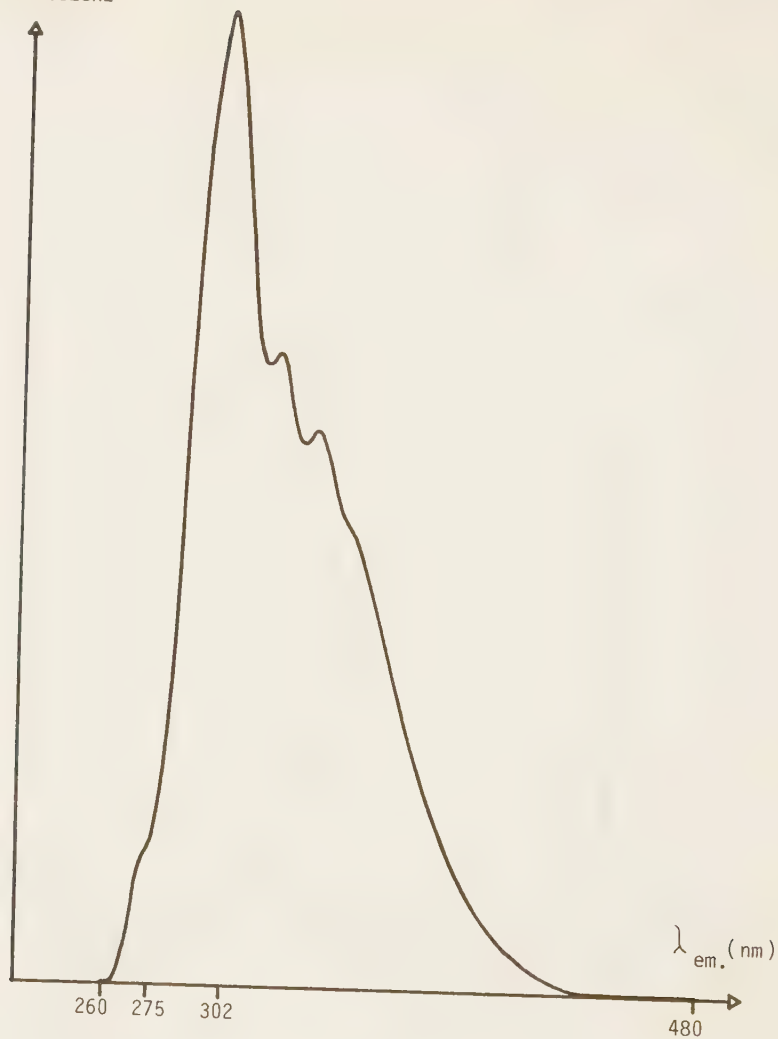


Abb. 8:

Emissionsspektrum von Atenolol in gemischter Arzneistofflösung.
(2,5 $\mu g/ml$ Propranolol-Hydrochlorid und 50 $\mu g/ml$ Atenolol in
0,01 N HCl; Excitation bei 275 nm).

Fluoreszenz



Abb. 8a:

Emissionsspektrum von Atenolol in gemischter Arzneistofflösung wie Abb. 8. Interpretation des intermediären Gipfels durch Superposition der Teilspektren.

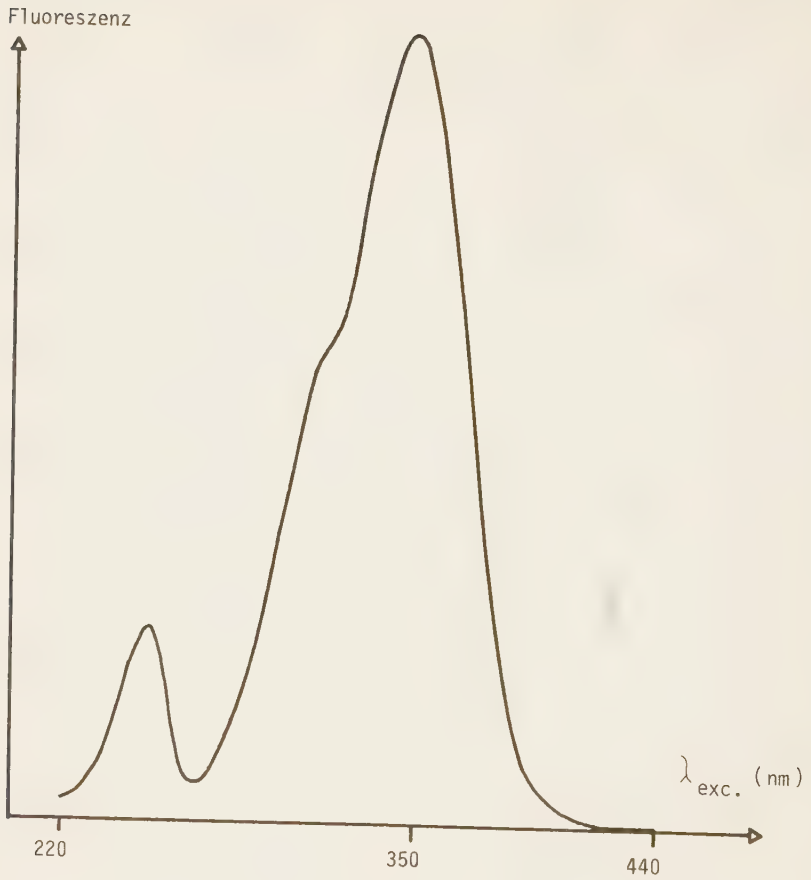


Abb. 9:

Excitationsspektrum von Chinin.

(5 $\mu\text{g/ml}$ Chinin-Sulfat in 0,01 N H_2SO_4 ; Emission bei 450 nm).

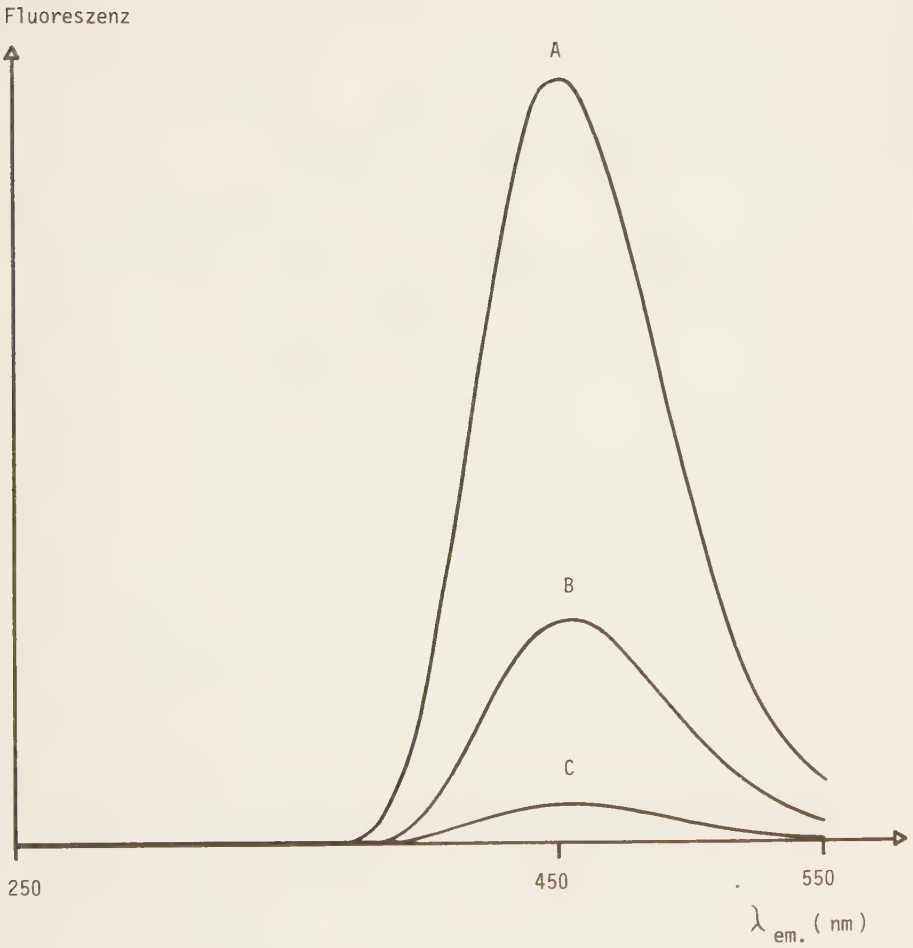


Abb. 10:

Emissionsspektren von Chinin. (5 $\mu g/ml$ Chinin-Sulfat in 0,01 N H_2SO_4 ; Excitation bei 350 nm (A), 295 nm (B) und 275 nm (C)).

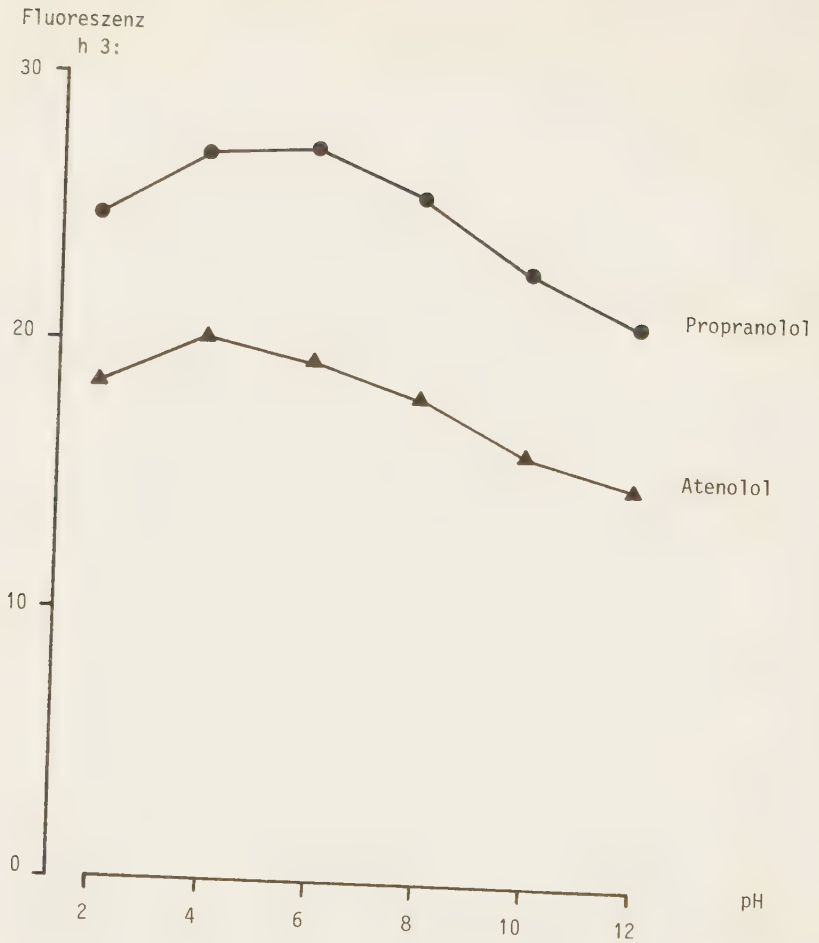


Abb. 11:

pH-Abhängigkeit der Fluoreszenz von Propranolol (1 $\mu\text{g/ml}$) und Atenolol (10 $\mu\text{g/ml}$). Doppelbestimmungen. Maximale Fluoreszenz im pH-Bereich 4 - 6.

Fluoreszenz
h 1:

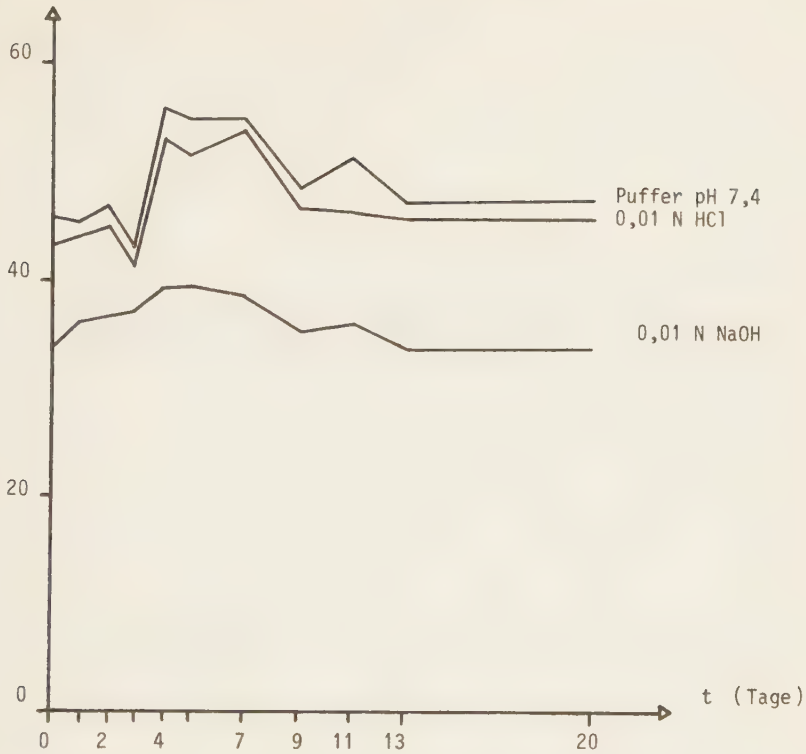


Abb. 12:

Stabilität der Fluoreszenz von Propranolol bei alkalischem, saurem und physiologischem pH.

Fluoreszenz

h 1:

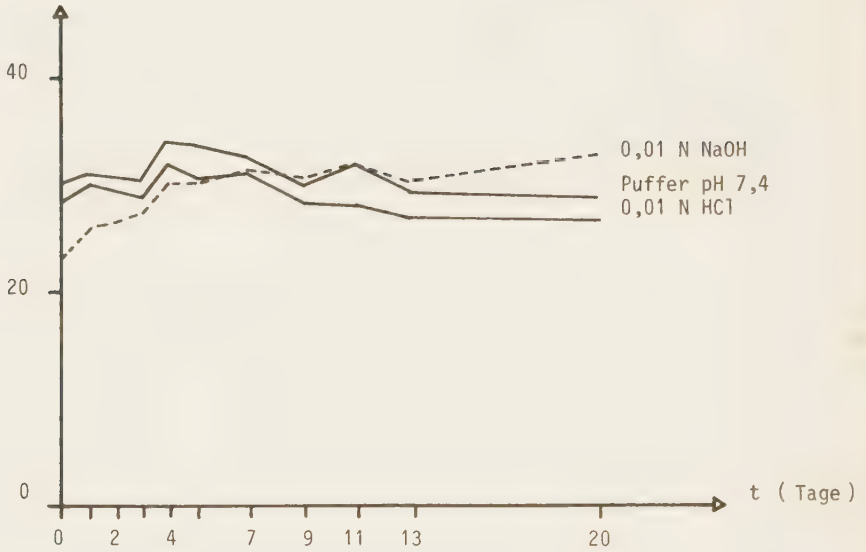
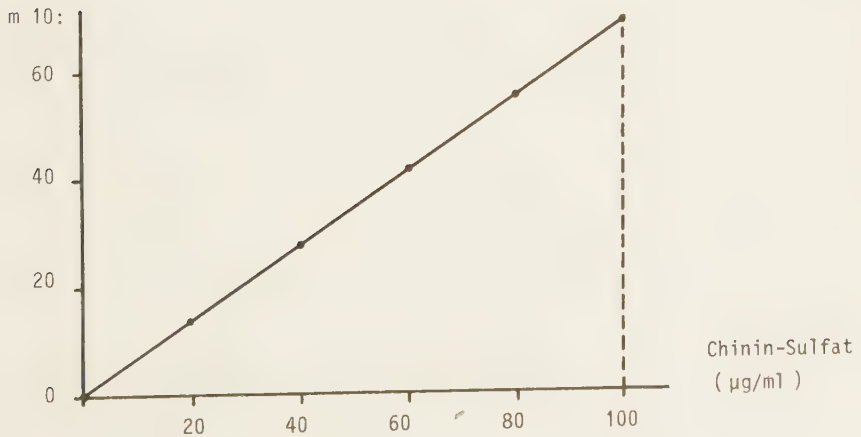
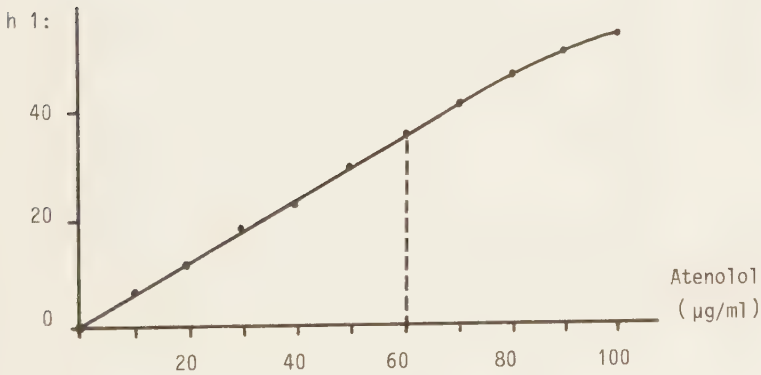
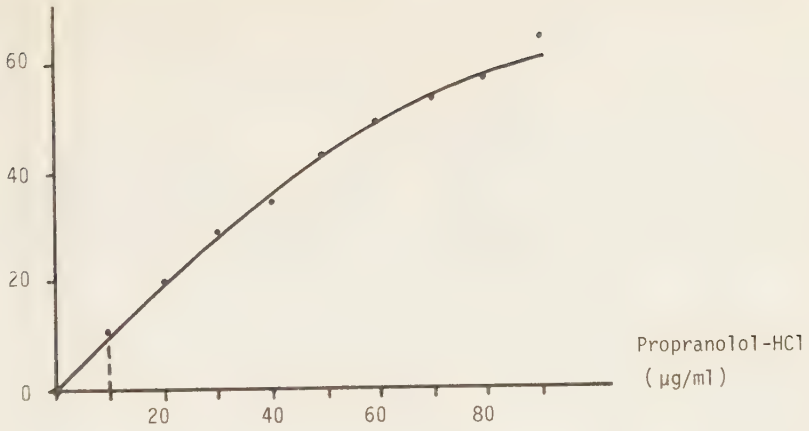


Abb. 13:

Stabilität der Fluoreszenz von Atenolol bei alkalischem, saurem und physiologischem pH.

Fluoreszenz
m 3:

XLI



Ab. 14: Legende auf der nächsten Seite

zu Abb. 14: (vorangehende Seite)

Standardkurven von Propranolol, Atenolol und Chinin ohne Extraktion, weiter Konzentrationsbereich. Obere Grenzen der Linearität durch gestrichelte Linien markiert.

Extraktionseffizienz (%)

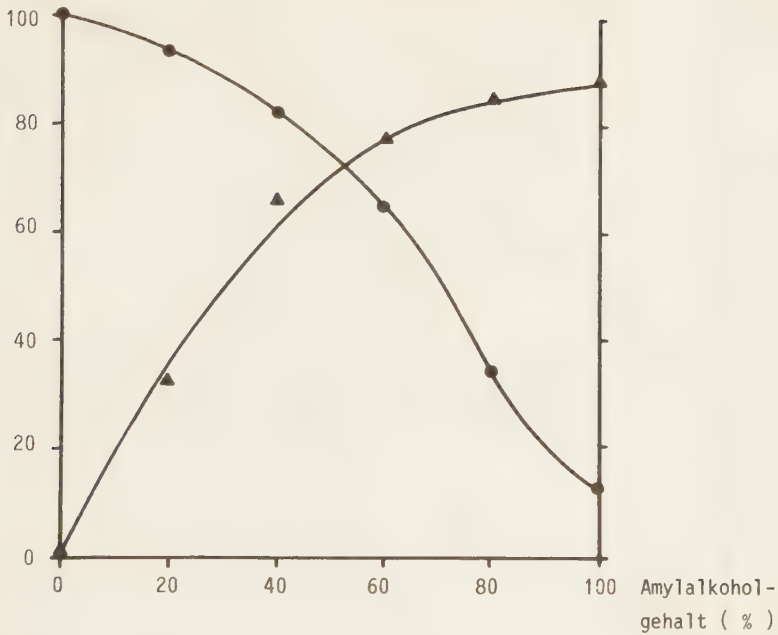


Abb. 15:

Extraktionseffizienz einer Mischung von Amylalkohol in n-Heptan für Propranolol (●) und Atenolol (▲).

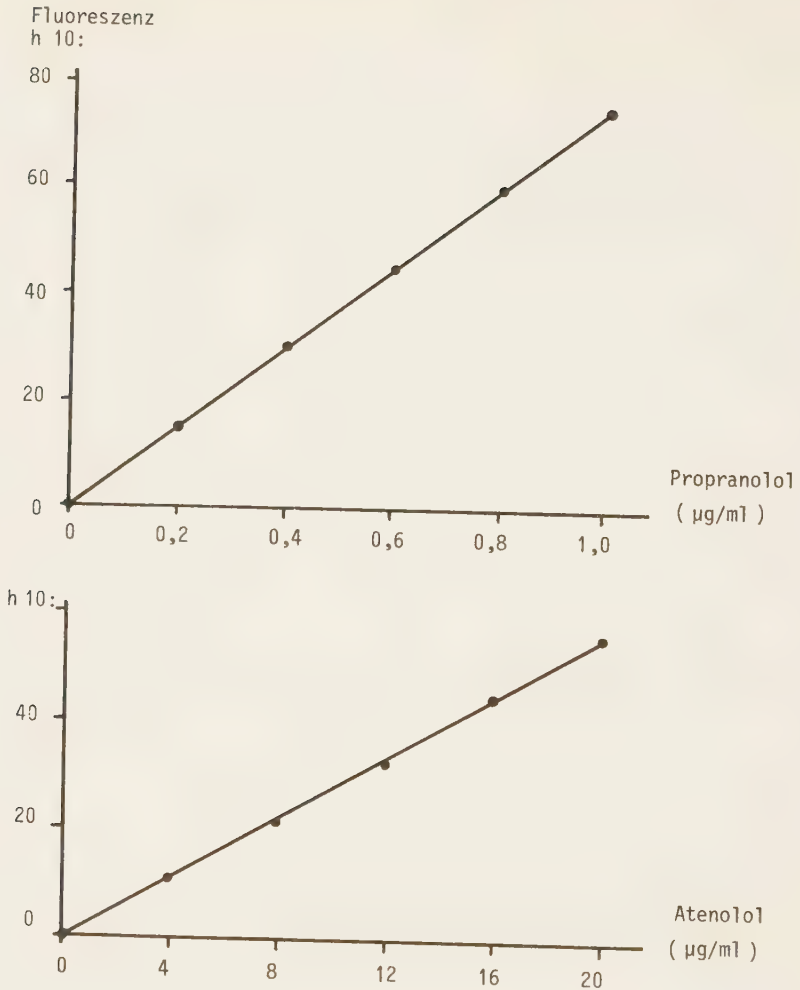


Abb. 16:

Standardkurven von Propranolol und Atenolol nach Extraktion aus Sörensen-Phosphatpuffer, dem etwa 5 % Speichel beige-mischt war.

Extinktion

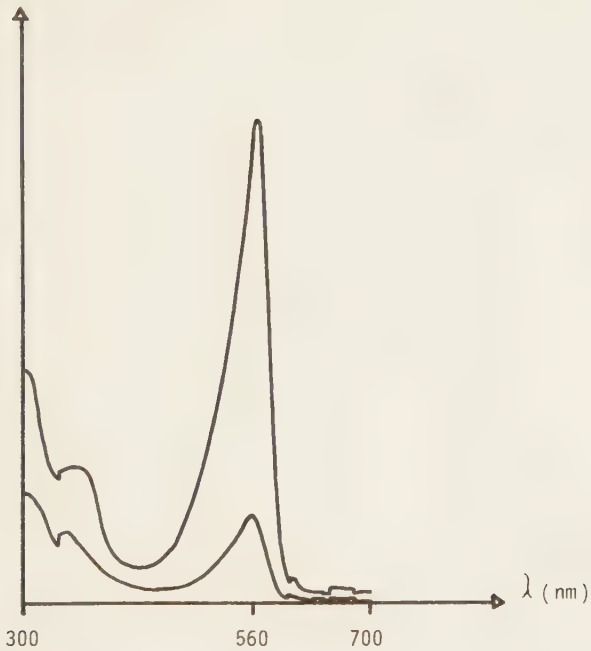


Abb. 17:

Absorptionsspektren von Phenolrot (0,2 und 1,0 $\mu\text{g/ml}$)
in alkalisiertem Phosphatpuffer.

Extinktion



Abb. 18:

Absorptionsspektren des Leerwertes sowie von 0,3 und 1,0 $\mu\text{g/ml}$ Phenolrot in Phosphatpuffer nach Mundkontakt.

Extinktion

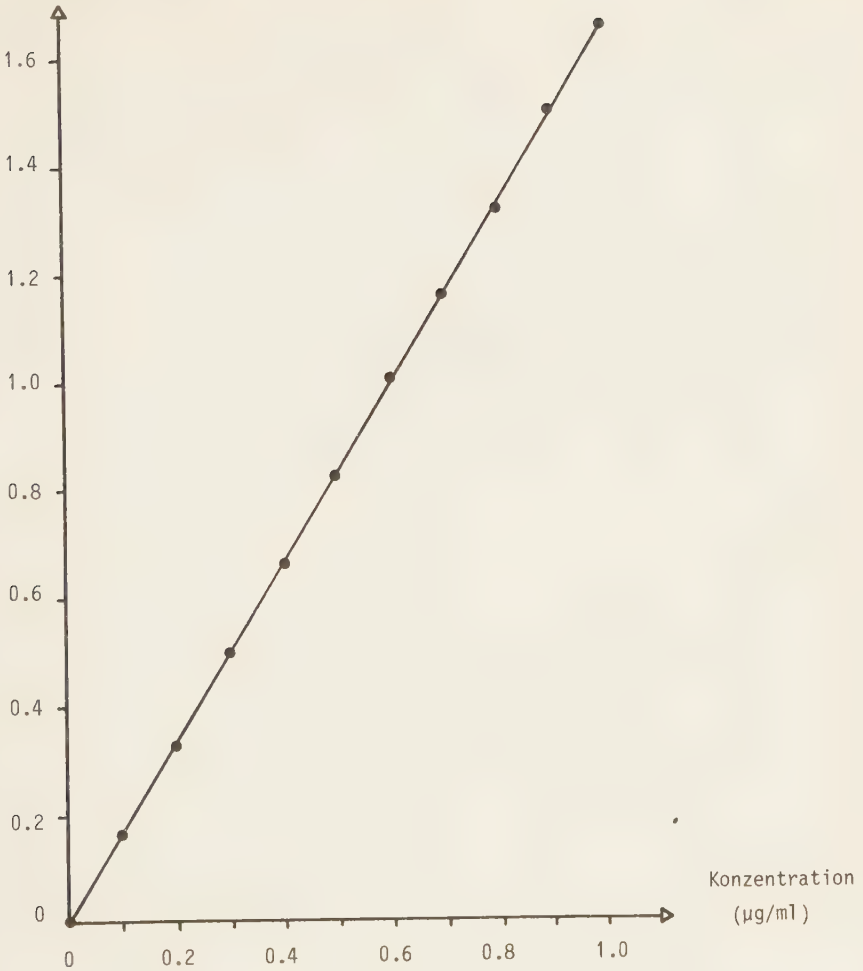
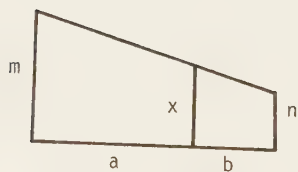
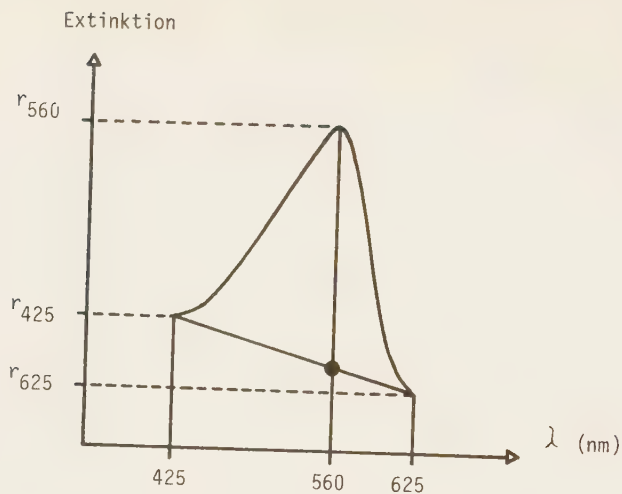


Abb. 19:

Standardkurve von Phenolrot in Phosphatpuffer pH 7,4, der entsprechend der Bestimmungsmethode mit 10 M NaOH alkalisiert worden war.



$$x = \frac{1}{a+b} (an + bm)$$

$$= \frac{a}{a+b} n + \frac{b}{a+b} m$$

$$= \frac{135}{200} r_{625} + \frac{65}{200} r_{425}$$

$$= 0,675 r_{625} + 0,325 r_{425}$$

Abb. 20:

Berechnung der Basisextinktion bei 560 nm.

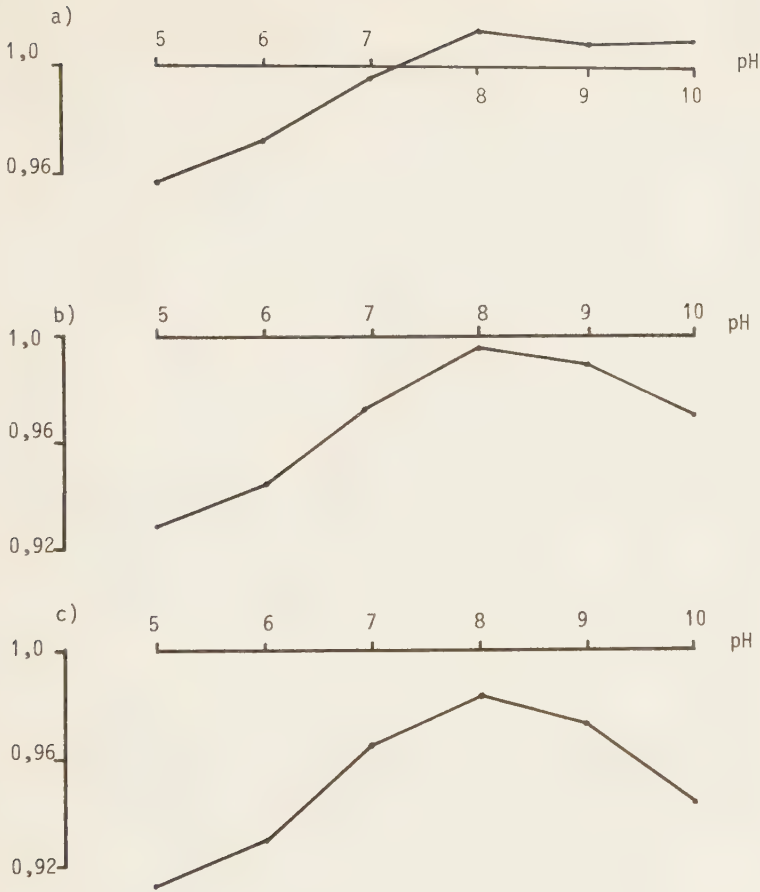


Abb. 21:

Fraktion des wiedergewonnen Markers nach den drei Rechenmethoden a), b) und c). Mittelwerte von 8 Versuchen.

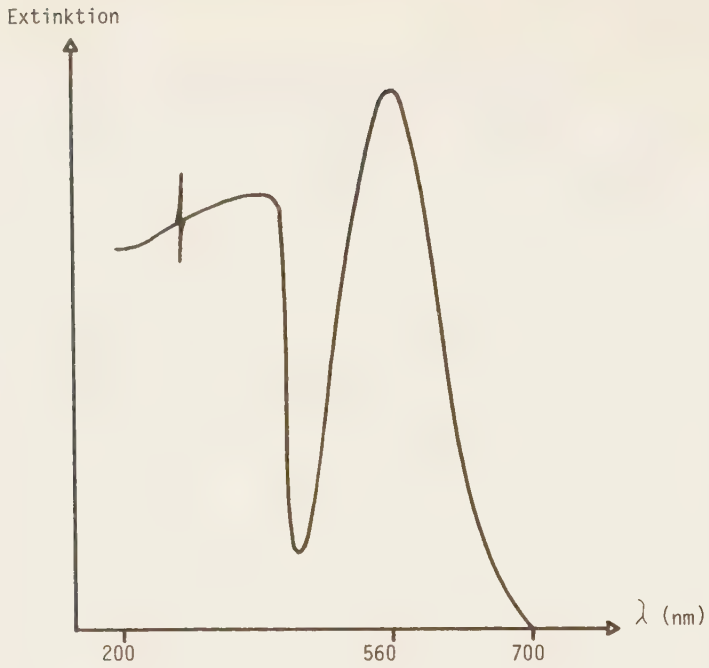


Abb. 22:

Absorptionsspektrum des Salicylsäurekomplexes nach Trinder (1954).

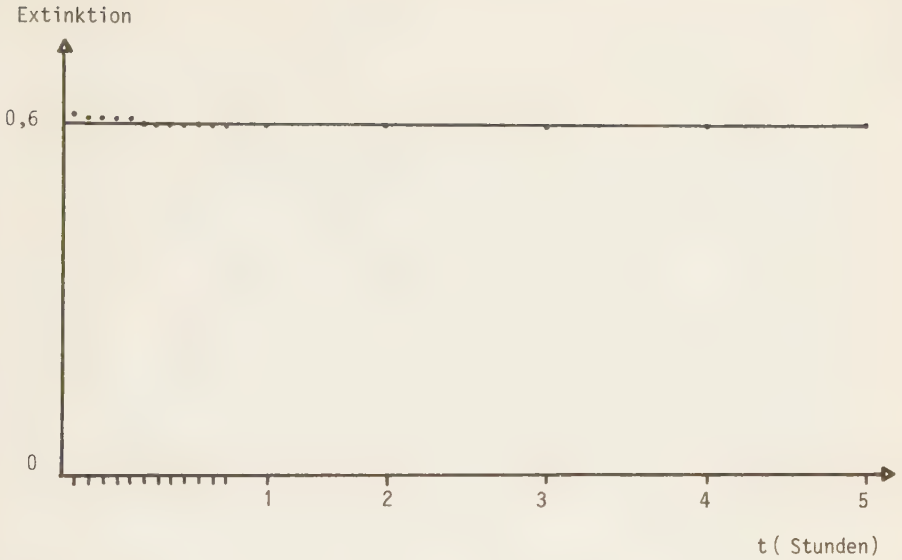


Abb. 23:

Stabilität des Salicylsäurekomplexes nach Trinder (1954).
(4 ml 200 $\mu\text{g/ml}$ Salicylsäure + 0,05 ml Trinder-Reagenz).

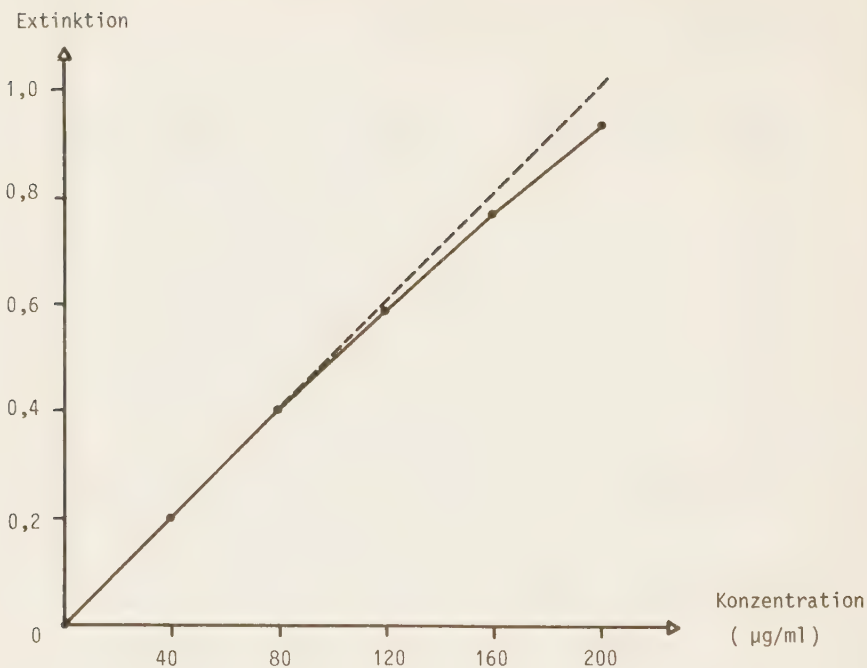


Abb. 24:

Standardkurve von Salicylsäure in entionisiertem Wasser.
(Zu 1 ml Salicylsäurelösung der angegebenen Konzentrationen
wurde 3 ml Trinder-Reagenz gegeben).

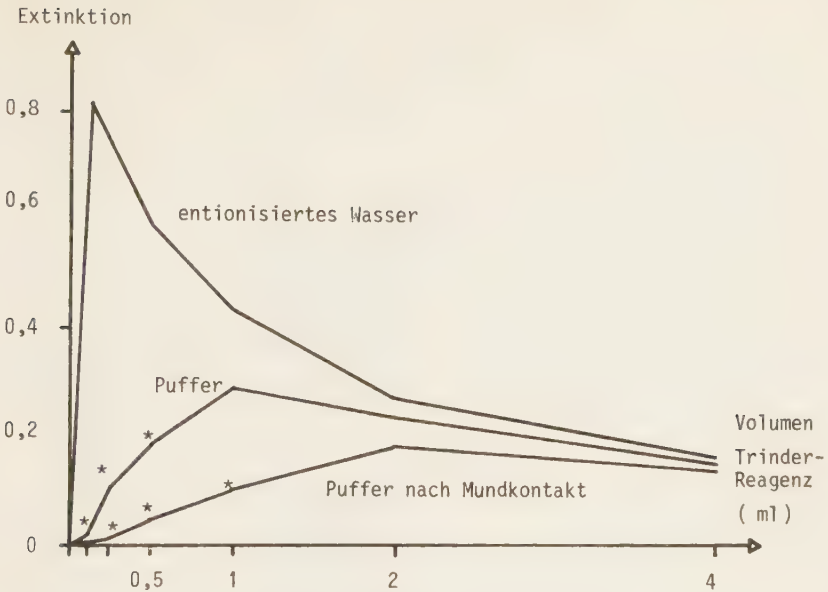


Abb. 25:

Die Bildung des farbigen Salicylsäurekomplexes hängt von der Reinheit der wäßrigen Lösung und von der zugefügten Menge Trinder-Reagenz ab.

Zu 1 ml 200 µg/ml Salicylsäure in entionisiertem Wasser, Phosphatpuffer (pH 7,0) und Phosphatpuffer nach Mundkontakt wurden zunehmende Volumina Trinder-Reagenz pipettiert. An den durch einen Stern markierten Punkten trat eine Trübung auf, die durch Zentrifugieren (5 Minuten bei 3000 U/min) beseitigt werden konnte.

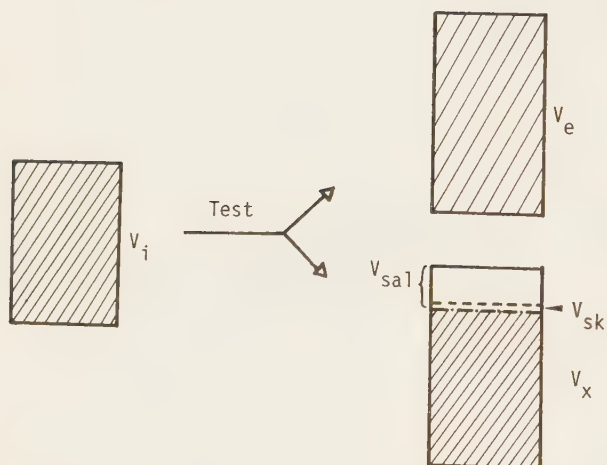


Abb. 26:

Volumen und Markerkonzentration nach dem bukkalen Resorptionstest.

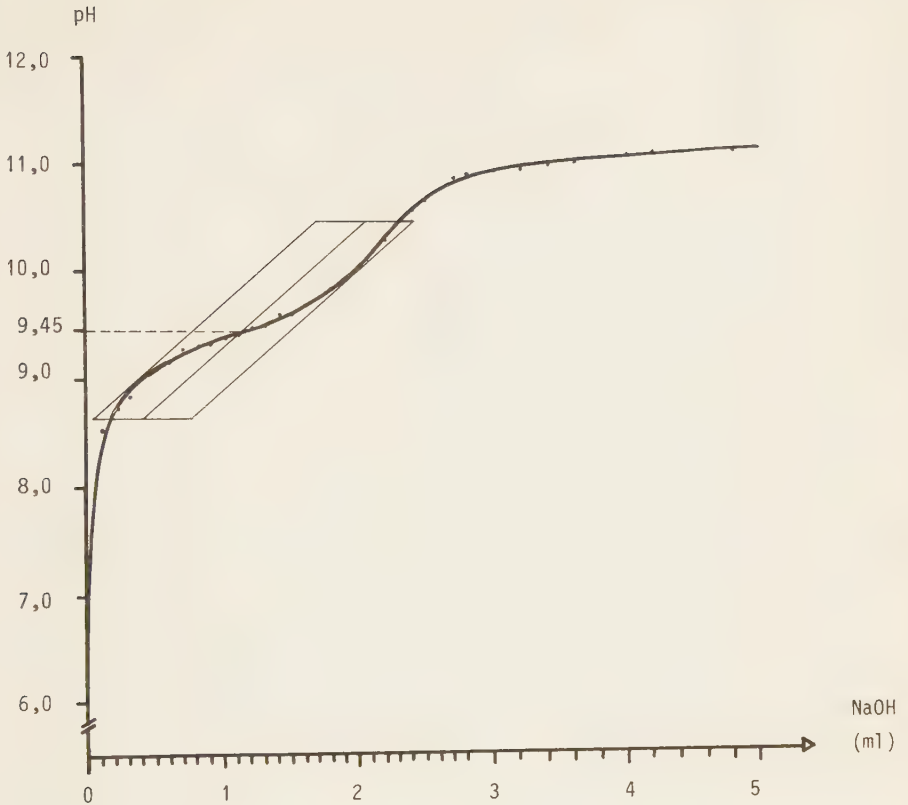


Abb. 27:

Titrationsskurve von Propranolol.

Zu jeweils 2 ml 0,01 M Propranolol-Hydrochlorid-Lösung wurden ansteigende Volumina 0,01 N NaOH pipettiert und der resultierende pH sofort gemessen. Der pKa-Wert von Propranolol wurde als der Mittelpunkt (Wendepunkt) der Schulter geometrisch konstruiert.

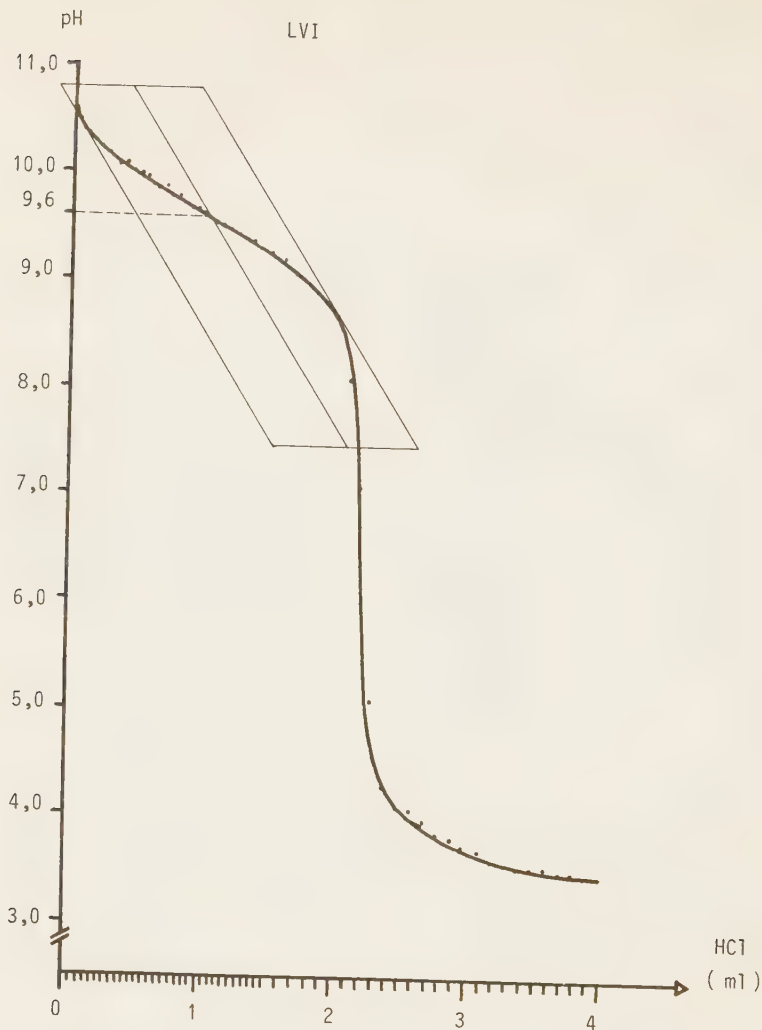


Abb. 28:

Titrationsskurve von Atenolol.

Zu jeweils 1 ml 0,01 M Atenolol-Lösung wurden ansteigende Volumina 0,005 N HCl pipettiert und der resultierende pH-Wert gemessen. Der pKa-Wert von Atenolol wurde als der Mittelpunkt (Wendepunkt) der Schulter geometrisch konstruiert.

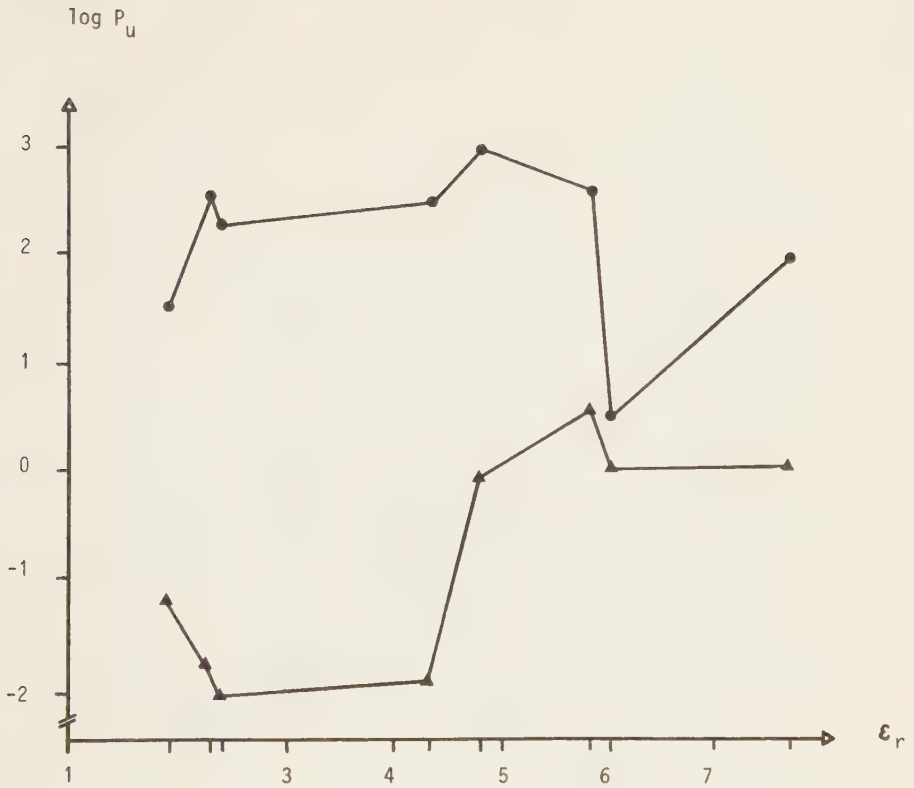


Abb. 29:

Verteilungseigenschaften von Propranolol (●) und Atenolol (▲) in Abhängigkeit von der Polarität des organischen Lösemittels. Halb-logarithmische Auftragung der Verteilungskoeffizienten gegen die Dielektrizitätskonstanten der untersuchten organischen Lösemittel.

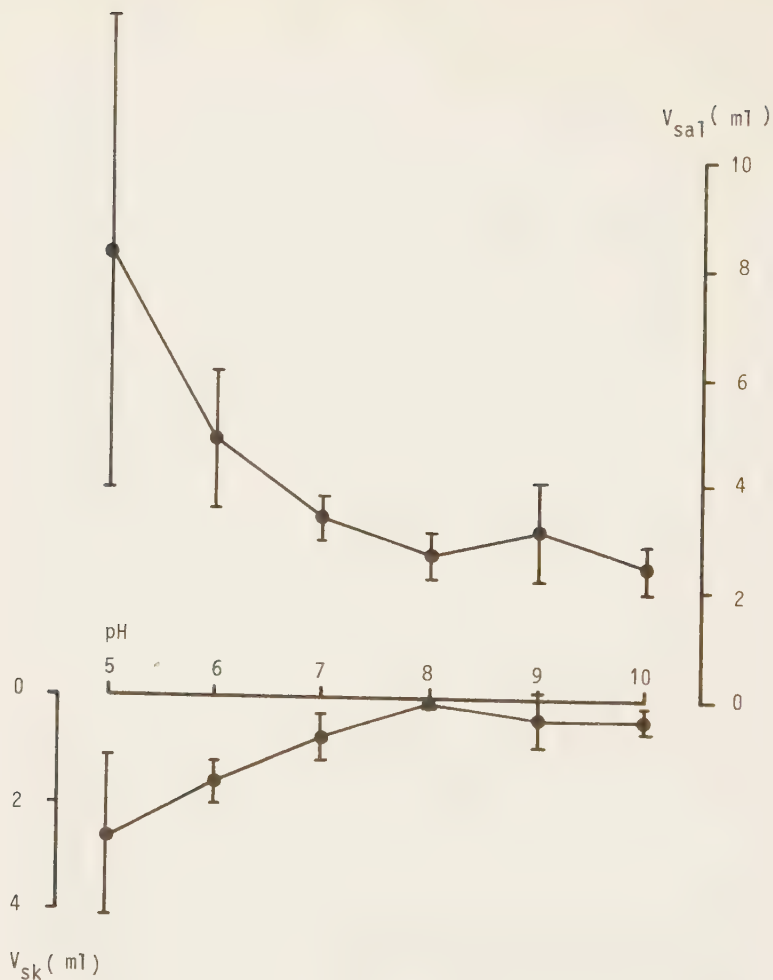


Abb. 30:

Speichelfluß (oben) und Schlucken (unten) in 5 min Kontaktzeit bei einem untrainierten Probanden. Mittelwerte und Standardabweichungen von vier Versuchen bei jedem pH.

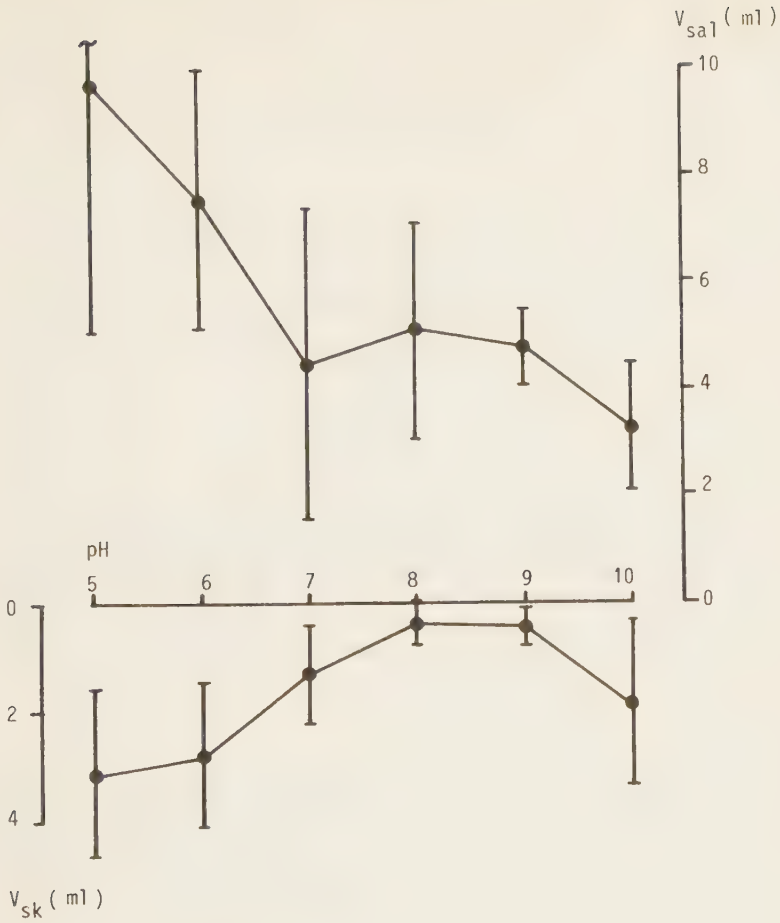


Abb. 31:

Speichelfluß (oben) und Schlucken (unten) in 5 min Kontaktzeit bei 15 untrainierten Probanden. Mittelwerte und Standardabweichungen von vier Versuchen bei jedem pH.

% res

LX

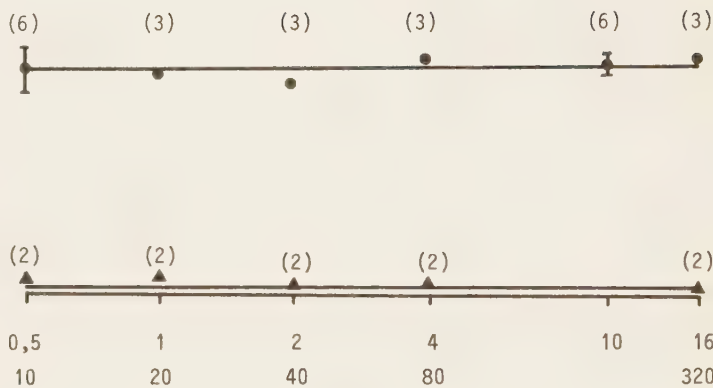


Abb. 32:

Konzentrationsabhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol (●) und Atenolol (▲) bei einem Probanden. Anzahl der Versuche in Klammern.

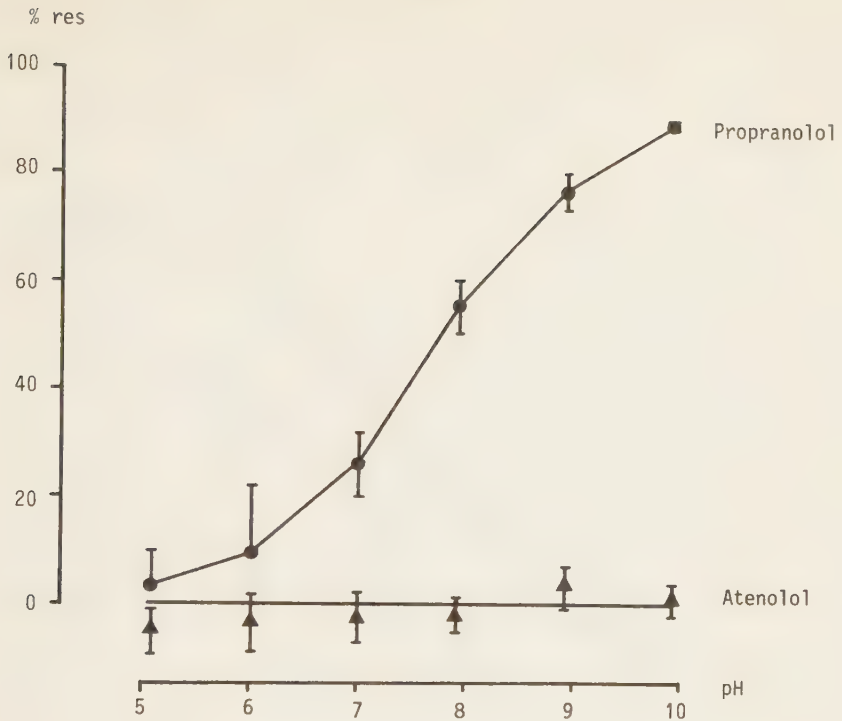


Abb. 33:

pH- Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol, ein Proband. (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n = 4$).

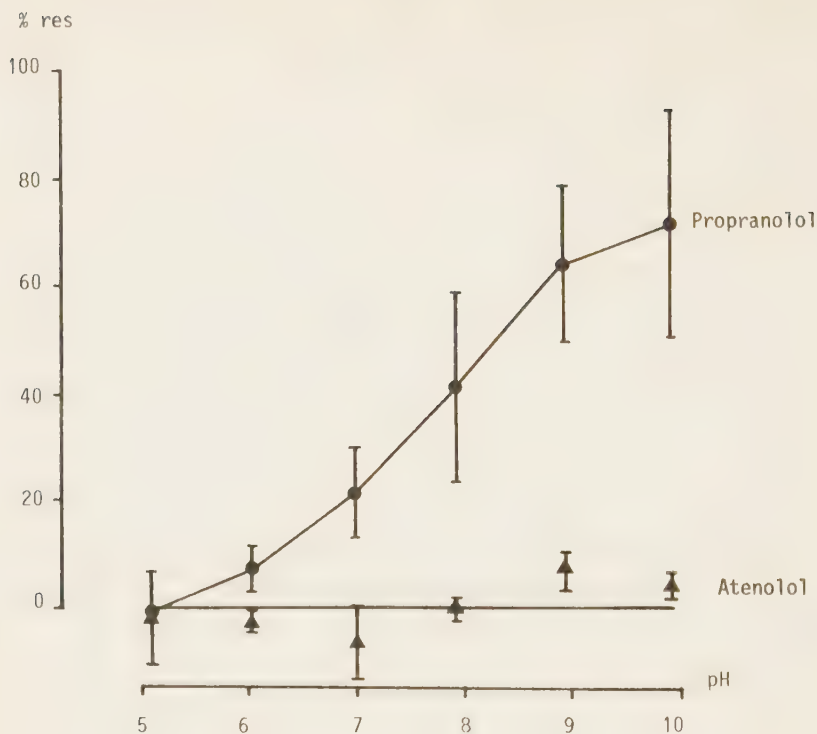


Abb. 34:

pH- Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol, 15 Probanden. (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n = 4$ bei jedem pH).

% nonres

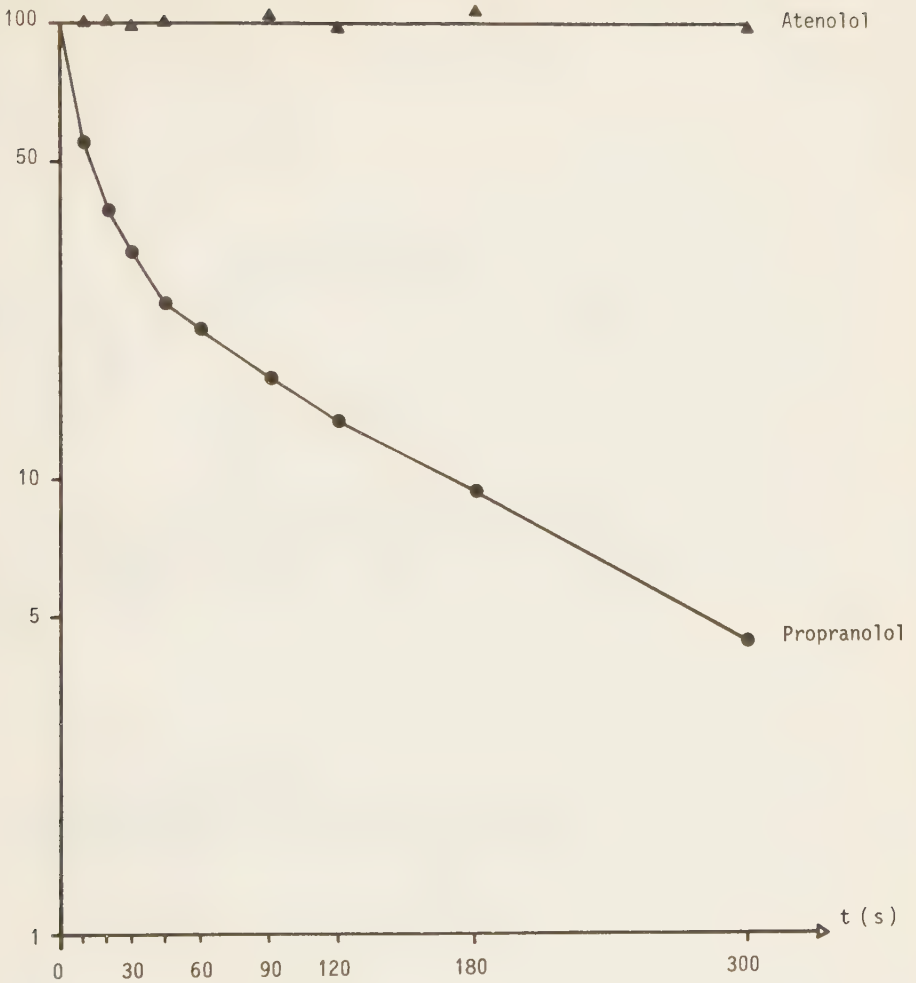


Abb. 35:

Zeitverlauf der bukkalen Resorption von Propranolol und Atenolol bei einem Probanden (Mittelwerte, $n = 4$, Test-pH = 10,45).

% res

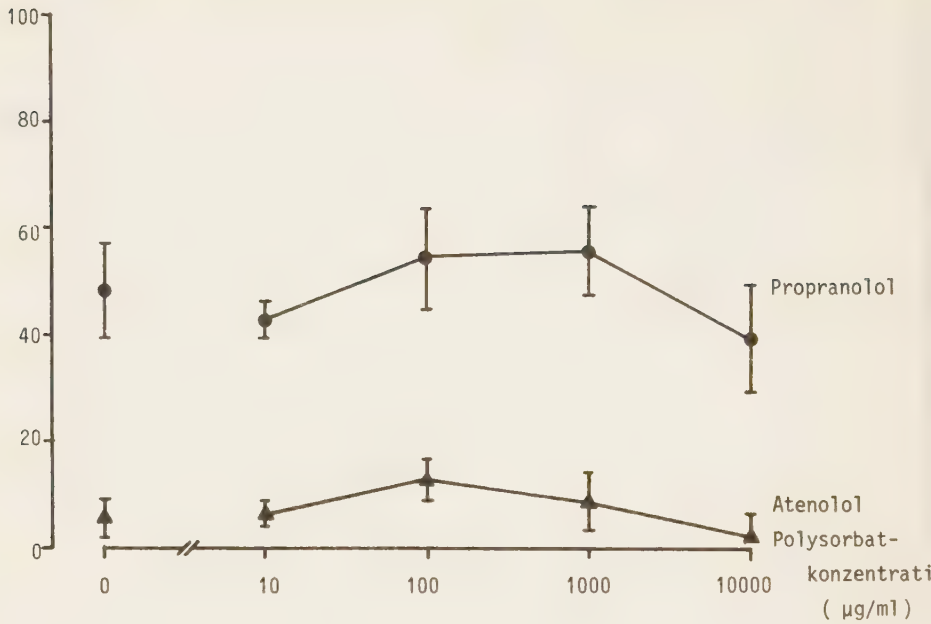


Abb. 36:

Einfluß von Polysorbat 80 auf die bukkale Resorption von Propranolol und Atenolol bei einem Probanden (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n = 4$, $\text{pH} = 7,0$, ohne Marker).

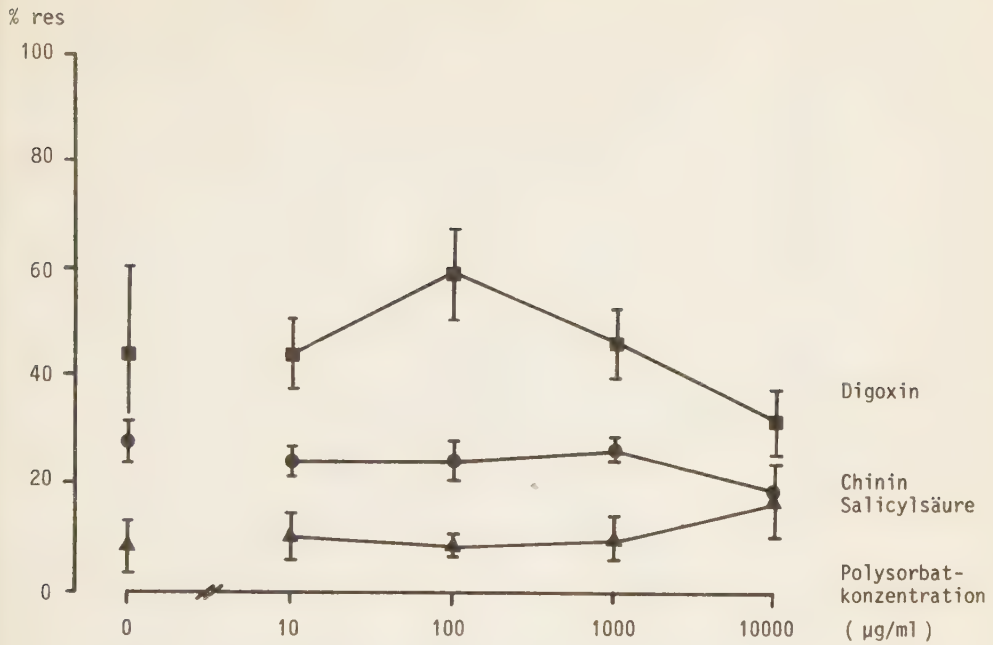


Abb. 37:

Einfluß von Polysorbat 80 auf die bukkale Resorption von Digoxin, Chinin und Salicylsäure bei einem Probanden. (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n = 4$, $\text{pH} = 7,0$, ohne Marker).

$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$

LXVI

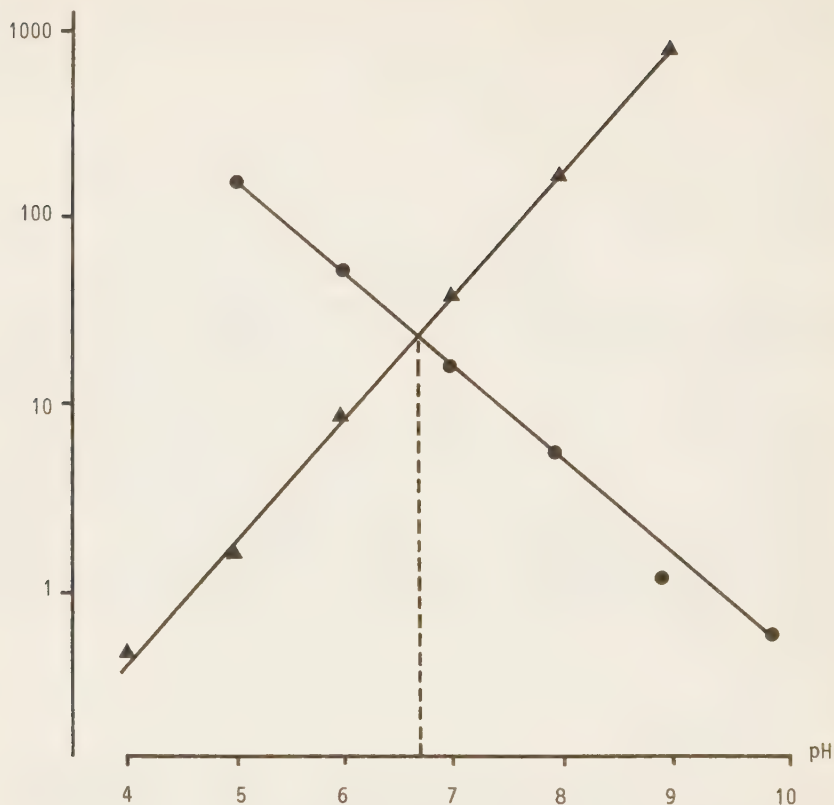


Abb. 38:

Halblogarithmische Darstellung der "wahren Resorptionskonstanten" k von Propranolol (●) und p-n-Hexylphenylacetic acid (▲) gegen den experimentellen pH. Ermittlung des Eigen-pH des puffernden Oberflächensystems der menschlichen Mundschleimhaut: $\text{pH}_{\text{intr.}} = 6,7$. Werte aus Tab. 25.

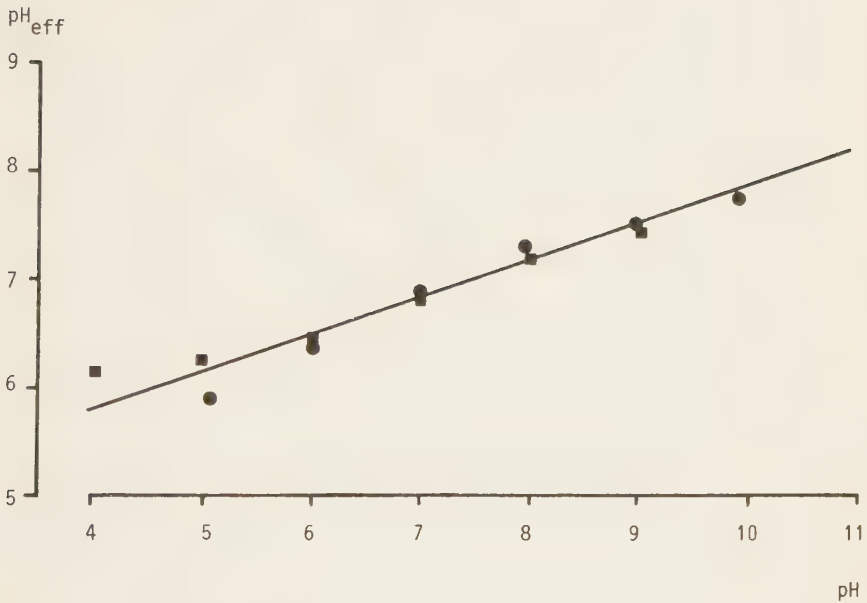


Abb. 39:

Pufferkapazität des postulierten Oberflächensystems an der Mundschleimhaut zweier Probanden (A.C.M. ■ und W.S. ●):

Eine Änderung des experimentellen pH um 2,86 Einheiten war nötig, um den effektiven pH um eine Einheit zu verändern.

($\Delta \text{pH} / \Delta \text{pH}_{\text{eff}} = 2,86$). Werte aus Tab. 25.

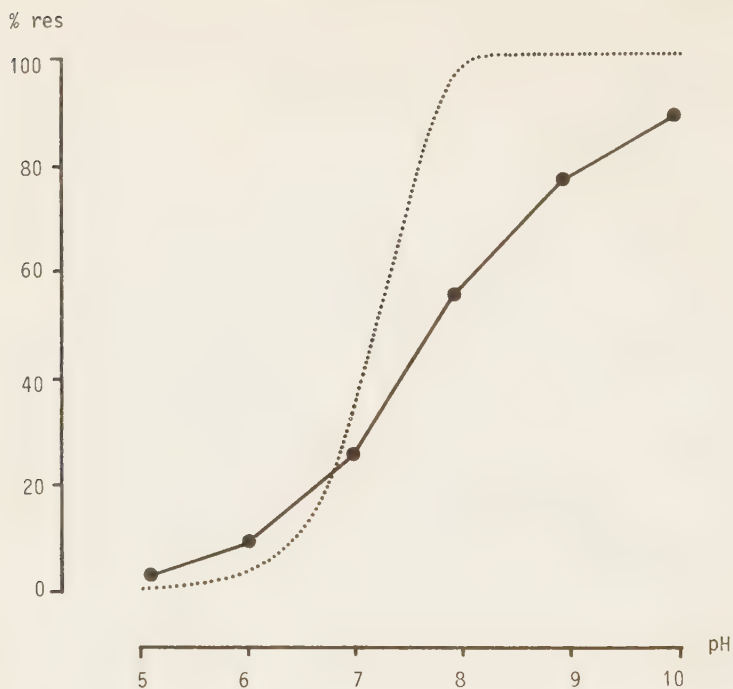


Abb. 40:

Gegenüberstellung der vorgefundenen (●—●) und der ohne Puffersystem zu erwartenden (·····) pH-Abhängigkeit der bukkalen Resorption von Propranolol.

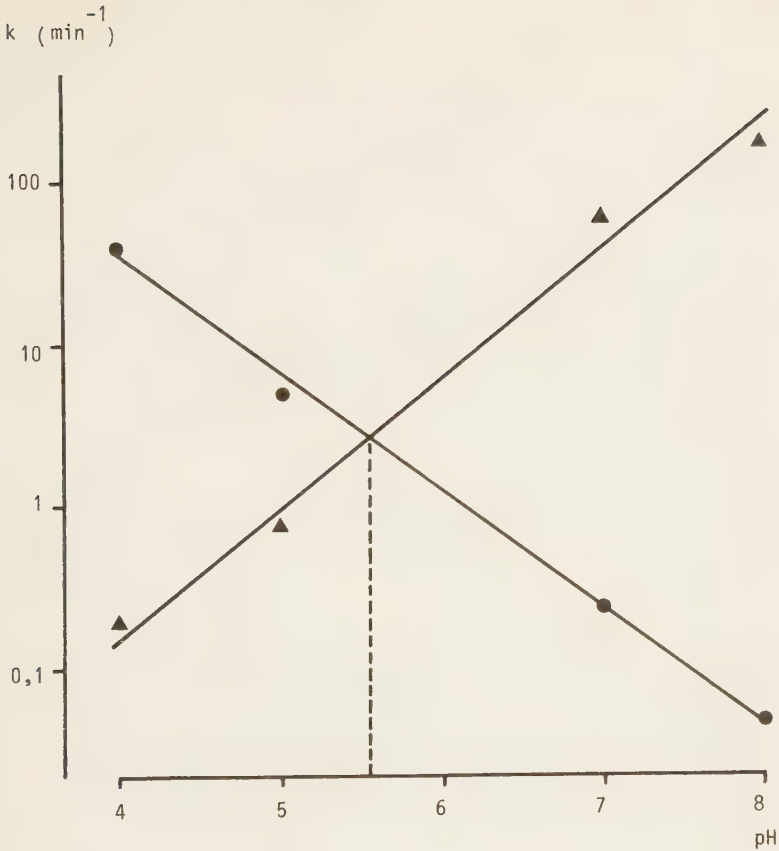


Abb. 41:

Halblogarithmische Darstellung der Resorptionskonstanten k von Chinin (●) und Salicylsäure (▲) im Rattendünndarm in Abhängigkeit vom experimentellen pH (nach Daten von Brodie, 1964). Ermittlung des Eigen-pH des Dünndarms der Ratte: $\text{pH}_{\text{intr.}} = 5,6$.

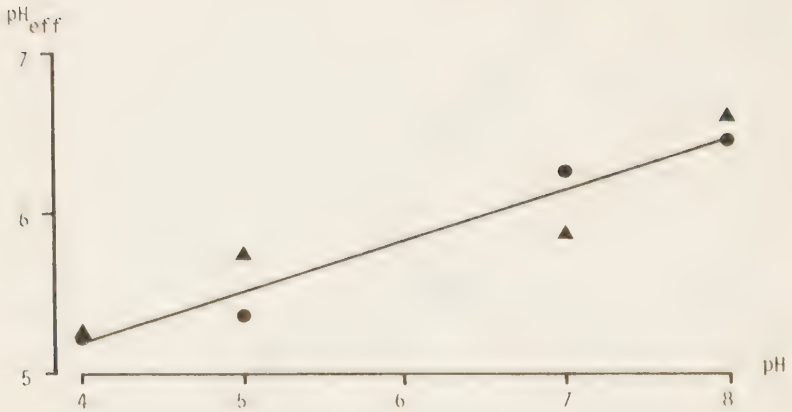


Abb. 42:

Puffereffekt des Oberflächensystems im Dünndarm der Ratte.

$\Delta \text{pH} / \Delta \text{pH}_{\text{eff}} = 4,2$ (nach Daten von Brodie, 1964, für Chinin $\bullet$ und Salicylsäure $\blacktriangle$).

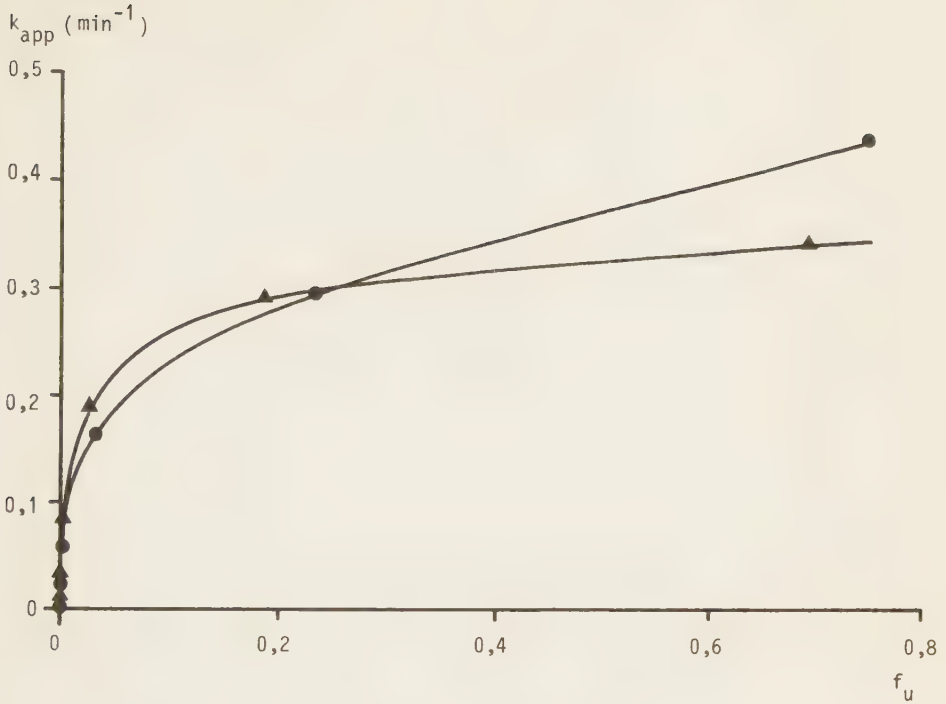


Abb. 43:

Darstellung der scheinbaren Resorptionskonstanten k_{app} von Propranolol (●) und p-n-Hexylphenylacetic acid (▲) in Abhängigkeit von der unionisierten Fraktion f_u . Werte aus Tab. 25.

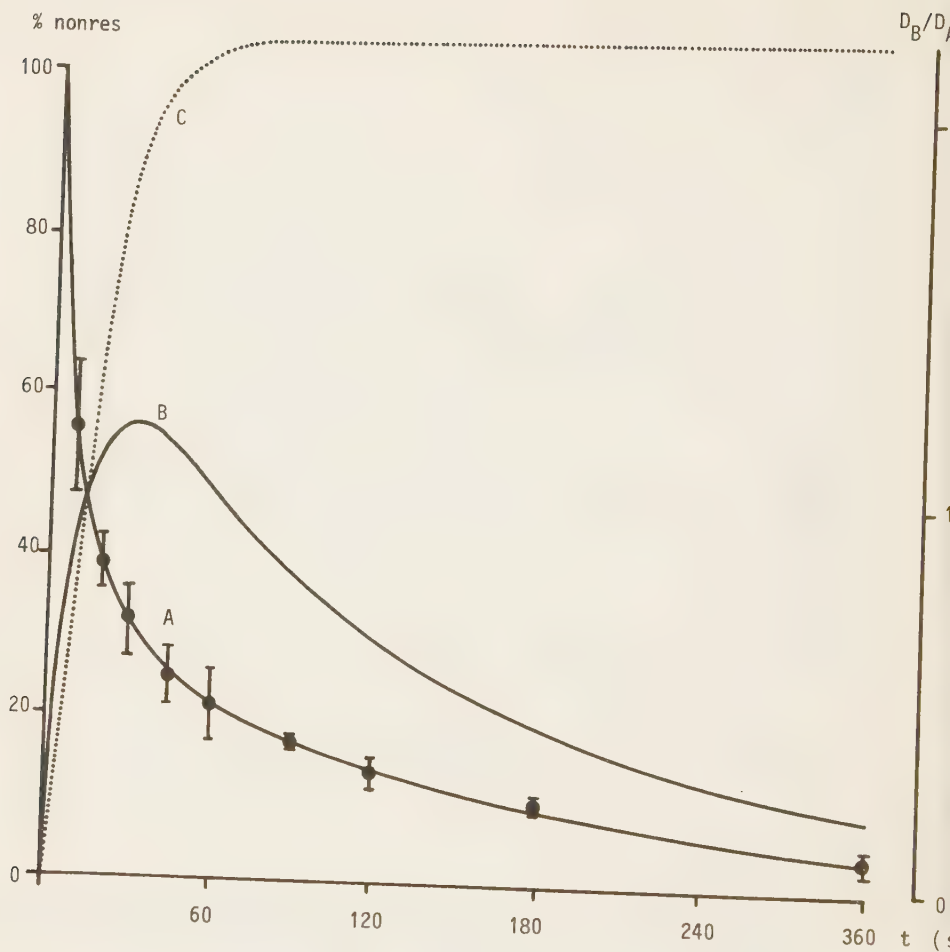


Abb. 44:

Zeitverlauf der bukkalen Resorption (Kurve A, ein Proband, Mittelwerte und Standardabweichungen, $n = 4$) sowie der Membranspeicherung (Kurve B) von Propranolol. Kurve C gibt den Zeitverlauf des Quotienten D_B/D_A wieder: Nach etwa 90 Sekunden ist 2,18mal mehr Propranolol in der Membran gespeichert, als in der Mundhöhle verbleibt.

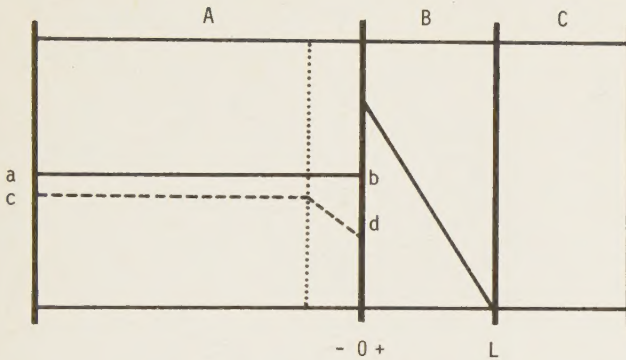


Abb. 45:

Eindimensionales Schema eines physikalischen Diffusionsmodells für die Mundschleimhaut. A, B und C bezeichnen die Kompartimente Mundhöhle (mit wäßriger Pufferschicht der Membran), Lipidmembran und Blutzirkulation. Die Linie a — b deutet schematisch die Gesamtkonzentration, die Linie c ----- d die Konzentration des unionisierten Anteils eines gelösten Arzneistoffs an. Es wird angenommen, daß in der Membran nur unionisierter Arzneistoff vorkommt, und daß die Konzentration innerhalb der Membran linear von einem Wert bei -0 , der durch den in vivo-Verteilungskoeffizienten zwischen -0 und $+0$ determiniert ist, auf Null bei L abnimmt.

